

**AUSWIRKUNGEN DES EINSEITIGEN
NASENVERSCHLUSSES AUF DIE ENTWICKLUNG DES
OLFAKTORISCHEN EPITHELS BEIM KANINCHEN**

BERNHARD STAHL

1988

Disbui. München

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Institut für Medizinische Psychologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand Prof. Dr. E. Pöppel

vorgelegt über Prof. Dr. E. Dahme
Institut für Tierpathologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie
und Neuropathologie

**AUSWIRKUNGEN DES EINSEITIGEN NASENVERSCHLUSSES
AUF DIE ENTWICKLUNG DES OLFAKTORISCHEN EPITHELS
BEIM KANINCHEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von Bernhard Stahl
aus Westernbach

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. E. Dahme

Korreferent: Prof. Dr. J. Unshelm

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

1.	Einleitung	1
1.1.	Olfaktorisches System	2
1.1.1.	Chemosensitive Organe in der Nasenhöhle	2
1.1.2.	Olfaktorische Schleimhaut	4
1.1.3.	Olfaktorisches Epithel	6
1.1.4.	Bulbus olfactorius	10
1.2.	Postnatale Entwicklung des olfaktorischen Epithels	11
1.2.1.	Regeneration der olfaktorischen Rezeptorneuronen	12
1.2.2.	Regulation der Neurogenese im Riechepithel	13
1.3.	Stimulationsabhängige Entwicklung des Bulbus olfactorius	15
1.3.1.	Aufzucht unter kontrollierten Duftbedingungen	15
1.3.2.	Olfaktorische Deprivation durch Verschuß einer Nasenöffnung	16
1.4.	Ziel dieser Arbeit	17
2.	Material und Methodik	19
2.1.	Versuchstiere	19
2.2.	Operative Methoden	19
2.3.	Histologische Methoden	22
2.4.	Morphometrische Auswertung	24
2.5.	Verhaltenstests	26
3.	Ergebnisse	27
3.1.	Normales Epithel (1. Lebenstag, 30. Lebenstag)	27
3.2.	Unilateraler Nasenverschluß	29
3.2.1.	Bulbus olfactorius	29
3.2.2.	Olfaktorisches Epithel	
	-lichtmikroskopische Befunde	31
3.2.3.	Olfaktorisches Epithel	
	-elektronenmikroskopische Befunde	36
3.2.4.	Lymphoretikuläres Gewebe	38

3.3.	Öffnung des Nasenverschlusses	39
3.3.1.	Permanente Wiederöffnung	39
3.3.2.	Temporäre Wiederöffnung	40
3.4.	Prüfung der Geruchswahrnehmung	41
4.	Diskussion	42
4.1.	Bewertung der Methoden	42
4.2.	Einordnung der Ergebnisse	44
4.3.	Interpretation und Hypothesen	46
5.	Anhang	51
6.	Zusammenfassung / Summary	57
7.	Literaturverzeichnis	61

Schon seit Mitte des letzten Jahrhunderts haben sich Wissenschaftler die Frage gestellt, welchen Einfluß die Umwelt auf die Entwicklung des Gehirns hat. So formulierte z.B. Berger (1900): "Untersuchungen haben ergeben, dass sich eine Hirnrinde mit den materiellen Spuren von Empfindungen ganz wesentlich von einer solchen ohne dieselben unterscheidet und vor Allem messe ich diesen Ergebnissen eine prinzipielle Bedeutung insofern bei, indem sie zeigen, daß die Reize der Außenwelt in der Hirnrinde, dem Organ der Psyche, dauerhafte Veränderungen zurücklassen, wie dies die Lehre von dem psychophysischen Parallelismus von jeher annimmt."

Heute weiß man besonders von visuellen und somatosensorischen, aber auch von akustischen Gehirnstrukturen, daß der Entzug von Sinnesreizen während der Ontogenese zu einer veränderten Entwicklung deren Projektionsgebiete führt. Die begleitenden funktionellen Störungen sind meist stärker ausgebildet, als es die strukturellen Veränderungen erwarten ließen. Im visuellen System junger Katzen fand man z.B. nach einseitigem Lidverschluß in den ersten Lebenswochen bei unveränderter Retina (Sherman und Stone, 1973) deutliche Reduktionen der Zellsomata in den Schichten des Corpus geniculatum laterale, die ihre retinalen Afferenzen vom verschlossenen Auge bekommen (Wiesel und Hubel, 1963; Sherman und Spear, 1982). Der wesentlichste Befund jedoch war eine Veränderung der Projektionen des Corpus geniculatum zum visuellen Kortex. So beschrieb Wiesel (1982), daß bei monokular deprivierten Tieren die Repräsentation des nicht deprivierten Auges im visuellen Kortex wesentlich umfangreicher ist als die des verschlossenen Auges. Diese Veränderungen erwiesen sich nach Wiedereröffnung des Auges als weitgehend irreversibel und führten zu einer dauerhaften funktionellen Beeinträchtigung. Dies wird damit erklärt, daß im ausgewachsenen Tier die bestehenden Innervationsmuster nicht mehr modifiziert werden können (Ganz et al., 1972).

Auch im somatosensorischen System fand man ausgeprägte und schon im Nisslbild sichtbare Veränderungen. Nach Läsion einzelner Sinushaare der Oberlippe bei neugeborenen Mäusen kommt es im somatosensorischen Kortex zu lokalisierten Reduktionen der Gebiete, die die Rezeptoren der zerstörten Sinushaare repräsentieren (Van der Loos und Woolsey, 1973). Diese Veränderungen im Kortex entstehen jedoch nicht durch Degeneration eines bereits etablierten Musters, sondern durch die Induktion

eines anomalen Musters in der Peripherie. Das heißt, die Zerstörung eines Tasterhaares in der Peripherie verhindert die Entwicklung der zugehörigen zentralen Struktur (Jeanmonod et al., 1977).

Obwohl die Entstehung der morphologischen Strukturen des Gehirns hauptsächlich von genetischen Informationen abhängig ist, würde dies bedeuten, daß sensorische Stimulation einen erheblichen Einfluß auf die postnatale Ausprägung des Zentralnervensystems hat (Blakemore und Cooper, 1970). Endogene Mechanismen versehen zwar die Sinnessysteme und ihre zentralnervöse Repräsentation mit einer spezifischen Architektur, doch sind frühe sensorische Erfahrungen für deren volle Entwicklung und für die Entstehung und Aufrechterhaltung bestimmter Verbindungen notwendig. Diese Deprivationsexperimente zeigen insbesondere, daß neurale Strukturen durch Umwelteinflüsse nur während einer kritischen postnatalen Periode verändert werden können. Diese Beeinflussbarkeit des Nervensystems ist ein fundamentaler Mechanismus, mit dem sich Organismen während der Entwicklung an ihre Umwelt anpassen können (Wiesel, 1982). Über den Einfluß der Umwelt auf die Entwicklung des olfaktorischen Systems ist dagegen vergleichsweise wenig bekannt, obwohl schon im letzten Jahrhundert erste Untersuchungen durchgeführt wurden (Gudden, 1870)

1.1. Olfaktorisches System

1.1.1. Chemosensitive Organe in der Nasenhöhle

Der Geruchssinn spielt eine entscheidende Rolle im Leben vieler Tiere. Er ist von Bedeutung für die Nahrungssuche, das Erkennen von Artgenossen und Feinden, die soziale Kommunikation und für das Sexualverhalten. Aus Luft oder Wasser stammende Geruchsstoffe wahrzunehmen ist eine Sinnesmodalität, die selbst den einfachsten Organismen zu eigen ist. Bei den meisten Säugetieren finden sich zwei chemosensitive Organe in der Nasenhöhle, das olfaktorische Organ (*Organum olfactus*) und das Jakobsonsche Organ (*Organum vomeronasale*), das zum akzessorischen olfaktorischen System zählt. Die beiden Organe zeigen morphologische und embryologische Ähnlichkeiten, doch sind sie anatomisch getrennt und besitzen eigene zentrale Projektionen zum *Bulbus olfactorius* bzw. *Bulbus olfactorius accessorius* (Broadwell, 1975a,b; Raisman, 1972; Scalia und Winans, 1975; Winans und Scalia, 1970). Die funktionelle Bedeutung dieser Trennung ist bis heute unklar (Beauchamp et al., 1982), doch

scheint das Vomeronasalorgan für das Reproduktionsverhalten von besonderer Bedeutung zu sein (Estes, 1972; Halpern, 1987; Bean, 1982; Keverne, 1983; Lehman und Winans, 1982; Winans und Powers, 1977; Wysocki et al., 1982).

Neben diesen beiden Organen ist auch der Nervus trigeminus an der Chemorezeption in der Nasenhöhle beteiligt. Sowohl der Nervus ophthalmicus (mit N. ethmoidalis) als auch der Nervus maxillaris (mit N. nasalis caudalis) innervieren als Äste des Nervus trigeminus (V. Gehirnnerv) die Nasenhöhle und das olfaktorische Epithel (Nickel et al., 1975). Sie scheinen eine Art Schutzfunktion zu erfüllen, da sie bei intensiven und toxischen Gerüchen eine Abwehrbewegung vermitteln und über autonome Fasern eine verstärkte Schleimsekretion in der Nasenhöhle erzeugen. Doch wurde in einer Anzahl von Arbeiten auch gezeigt, daß Trigeminafasern bei der normalen Chemorezeption eine Rolle spielen und auf verschiedene Geruchsstoffe bereits in Konzentrationsbereichen antworten, die den olfaktorischen entsprechen (Silver und Maruniak, 1981; Stone et al., 1966). Zudem haben verschiedene Autoren gezeigt, daß das olfaktorische System und der Nervus trigeminus auf zentralem Niveau miteinander interagieren (Cain und Murphy, 1980; Stone et al., 1966, 1968; Stone und Rebert, 1970). Aber auch peripher scheint eine trigeminale Modulation der olfaktorischen Rezeptorzellen durch Ausschüttung von Substanz P über einen lokalen Axonreflex möglich zu sein (Bouvet et al., 1987).

Schließlich innerviert der Nervus terminalis, der im allgemeinen nicht zum olfaktorischen System gerechnet wird, sowohl das olfaktorische Epithel als auch das Jacobsonsche Organ (Huber und Guild, 1913; Larsell, 1918, 1950; Locy, 1905), und es ist wahrscheinlich, daß er zur Wahrnehmung von Gerüchen beiträgt. Seine zentralen Projektionen liegen im Bereich der ventro-medialen Oberfläche des Telencephalons. Seine Funktion blieb trotz vergleichender Untersuchungen bisher im Dunkeln (Bojsen-Møller, 1975), doch deuten neuere Untersuchungen darauf hin, daß er Teil des LH (luteinizing hormone)- freisetzenden neuronalen Systems sein könnte (Schwanzel-Fukuda und Silverman, 1980; Witkin und Silverman, 1983).

In diesem Zusammenhang sollte ein drittes, tierartlich unterschiedlich vorkommendes Neuroepithel der Nasenhöhle nicht unerwähnt bleiben, dessen Funktion bisher nicht bekannt ist. Es handelt sich um das Septalorgan, 1943 von Rudolfo Masera zum erstenmal beschrieben und deshalb auch als Maserasches Organ bezeichnet. Bei Ratten liegt es

als Epithelinsel ventral des olfaktorischen Epithels im Bereich der Choane, jedoch fehlt es bei Kaninchen (Masera, 1943). Die Struktur dieser bipolaren Rezeptorzellen scheint sich von der des Haupteithels zu unterscheiden, doch senden auch sie ihre Axone zum Bulbus olfactorius (Graziadei, 1977; Mirgall et al., 1984).

1.1.2. Olfaktorische Schleimhaut

Bei makroskopischer Betrachtung der Nasenhöhle läßt sich im kaudo-dorsalen Teil der Nasenhöhle die olfaktorische Schleimhaut durch ihre gelblich-braune Pigmentierung gut abgrenzen (Abb. 1). Ihre Färbung ist durch ein nicht näher charakterisiertes Pigment bedingt (Moulton und Beidler, 1967), dessen Bedeutung für die Geruchswahrnehmung jedoch nicht bekannt ist (Moulton, 1962, 1970). Die olfaktorische Schleimhaut ist ein Teil der Innenauskleidung der Nasenhöhle und befindet sich sowohl auf dem Septum nasi als auch auf der Siebbeinmuschel und auf einem großen Teil der Ekto- und Endoturbinalia (Abb. 2). Sie hat beim adulten Kaninchen eine Ausdehnung von etwa $8,5 \text{ cm}^2$ (Allison und Warwick, 1949; Mulvaney und Heist, 1970). Die olfaktorische Schleimhaut besteht aus dem Neuroepithel (Lamina epithelialis) und der Lamina propria mucosae (Abb. 3), die durch eine Basalmembran getrennt sind. Eine Tunica submucosa fehlt der olfaktorischen Schleimhaut (Graziadei, 1973a). Die zum Teil mehr als 1mm dicke Propria führt Bündel von marklosen Nervenfasern, die Fila olfactoria (Abb. 3), und wenige markhaltige Trigemini-fasern. Beide Fasertypen liegen teilweise auch gemischt im selben Nervenbündel (Hafner, 1987). Daneben enthält die Propria versorgende Blutgefäße und ferner die für die Riechschleimhaut spezifischen Bowmanschen Drüsenzellen (Abb. 3). Die Propria, welche direkt einer knorpeligen oder knöchernen Grundlage anhaftet, geht fließend aus der straffen Schicht des Perichondrium bzw. des Periost hervor.

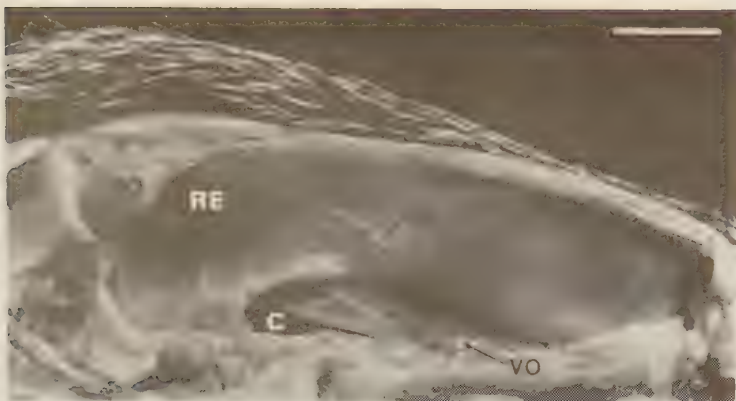


Abb 1 Seltenansicht der freipräparierten Nasenhöhle eines adulten Kaninchens. Deutlich zu erkennen sind das pigmentierte Riechepithel (RE) auf dem Nasenseptum, der Bulbus olfactorius (BO), die Vomeronasalnerven (VN) zusammen mit dem hinteren Ende des Vomeronasalorgans (VO) und die Öffnung der Choane (C) Balkenlänge = 1cm.

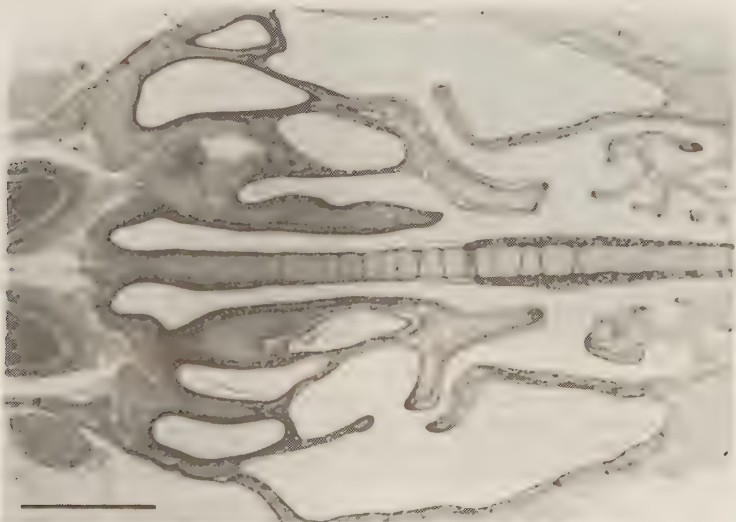


Abb. 2: Horizontalschnitt durch die Nasenhöhle und den Bulbus olfactorius eines 30 Tage alten Kaninchens. Die kaudalen Zonen des Nasenhöhlengrundes sind von der dunkler gefärbten olfaktorischen Schleimhaut überzogen, deren Ausbreitungsgebiet den kaudalen Teil des Septum nasi sowie den größten Teil der Nasenschnecken umfaßt. Paraffinschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Balkenlänge = 5 mm



Schon lichtmikroskopisch lassen sich aufgrund unterschiedlicher Färbintensität und Kernmorphologie die einzelnen Zelltypen, die am Aufbau des olfaktorischen Epithels beteiligt sind, gut unterscheiden (Graziadei, 1971; Graziadei und Monti Graziadei, 1979). Auffallend ist die Schichtung der Zellkerne in übereinander angeordneten Lagen (Abb. 4). Zuunterst befinden sich, der Basalmembran aufliegend, die relativ kleinen und dicht strukturierten dunklen Basalzellen. Darüber schließen sich die relativ blaß gefärbten Kerne der hellen Basalzellen an, und in mehreren Lagen im mittleren Teil des Epithels liegen die Zellkerne der bipolaren primären Sinneszellen des olfaktorischen Neuroepithels. Die oberste Lage bilden die meist in einer Reihe angeordneten Zellkerne der Stützzellen. Bezüglich der Morphologie sind innerhalb der Säugetierreihe keine grundlegenden Unterschiede im Aufbau des olfaktorischen Epithels zu finden.

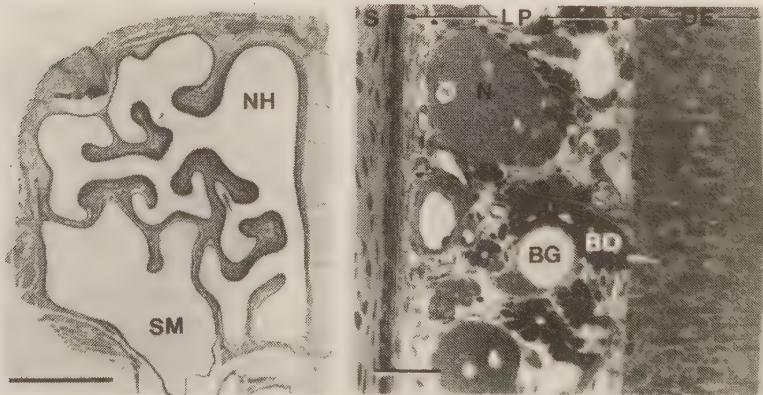


Abb. 3: Links: Transversalschnitt durch den kaudalen Bereich der Nasenhöhle eines 30 Tage alten Kaninchens. Nasenhöhle (NH) und Sinus maxillaris (SM) sind zu unterscheiden. Paraffin-Schnitt, Hämatoxilin-Eosin-Färbung, Balkenlänge = 2,5 mm.

Rechts: Semidünnschnitt durch die olfaktorische Schleimhaut eines Kaninchens. Diese umfaßt das olfaktorische Epithel (OE) und die Lamina propria mucosae (LP) in der olfaktorische Nervenbündel (N), Bowman-Drüsen (BD) und Blutgefäße (BG) zu finden sind; darunter der Knorpel des Septum nasi (S). Epon-Schnitt, Richardson-Färbung, Vergr. 310-fach, Öl-Immersion, Balkenlänge = 50 µm

Während die Zahl der dunklen Basalzellen mit dem Alter zunimmt, finden sich helle Basalzellen bei sehr jungen Tieren häufiger als bei älteren. Helle Basalzellen stellen vor allem ein Reservoir an Neuroblasten dar, aus denen auch im adulten Tier neue Sinneszellen nachreifen können, doch können sich aus ihnen auch dunkle Basalzellen entwickeln, die wahrscheinlich die Funktion ruhender Progenitorzellen haben (Breipohl et al., 1986; Graziadei und Monti-Graziadei, 1978a, b; Mackay-Sim und Patel, 1984). Im Verlaufe der Ausreifung zur Rezeptorzelle hebt sich die helle Basalzelle zunehmend von der Basalmembran ab, entsendet ein Axon zum Bulbus olfactorius und schlebt einen Dendriten zur Epitheloberfläche vor, in dem es zur Reduplikation der Centriolen kommt, die später im Sinneskolben (Abb. 5) die Basalkörper der Zilien bilden (Mulvaney und Heist, 1971a, b).

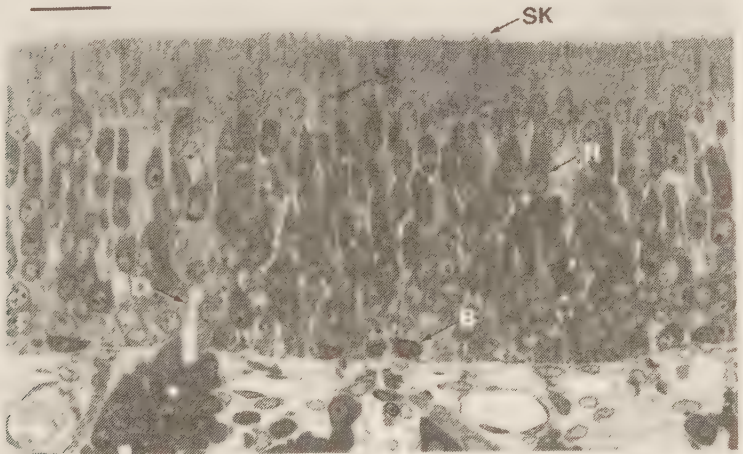


Abb. 4: **Aufbau des olfaktorischen Epithels:** SK = Sinneskolben, S = Stützzellkern, R = Rezeptorzelle, B = Basalzellkern, BD = Ausführungsgang einer Bowman-Drüse. Epon-Schnitt, Richardson-Färbung, Vergr. 500-fach, Öl-Immersion, Balkenlänge = 25 µm.

Die birnen- bzw. flaschenförmigen olfaktorischen Rezeptorzellen weisen die typische Feinstruktur einer Nervenzelle auf. Sie können daher nicht mit den Sinneszellen der Geschmacksknospen oder des Innenohrs verglichen werden, da diese Zellen kein Axon besitzen und keine direkten Verbindungen mit dem Zentralnervensystem ausbilden. Bei

Vertebraten sind die olfaktorischen Neuronen die einzigen primären Sinneszellen, deren Perikarya nicht in einem sensorischen Ganglion liegen, sondern im Neuroepithel selbst (Graziadei und Monti-Graziadei, 1979).

Der periphere Fortsatz (Dendrit) geht ohne scharfe Abgrenzung aus dem Perikaryon der Rezeptorzelle hervor. Sein die Epitheloberfläche erreichender Ausläufer trägt den olfaktorischen Sinneskolben (Andres, 1965, 1969), eine für das Riechepithel spezifische Struktur (Abb. 5), die auch als Endkolben, Riechkolben oder engl. "Knob" bezeichnet wird. Ein voll ausgebildeter Sinneskolben trägt 8-20, beim Hund angeblich bis über 100 Sinneshaare (Altner und Kohlberger, 1975; Okano, 1965). Diese Zilien bestehen aus einem dicken Anfangsteil und einem dünnen Endstück. Sie besitzen in ihrem Anfangsteil den charakteristischen Aufbau einer Kinozilie mit zwei zentralen Tubuli, die von 9 Tubuluspaaren umgeben werden. In ihrem distalen Teil, der auch als "Endspieß" bezeichnet wird, enthalten sie nur noch zwei einzelne Tubuli. Die Zilien können bis über 100 µm lang werden und sind bei Säugetieren nicht aktiv beweglich. Zusammen mit den Stützzellmikrozotten, den Sinneskolben und den Sekreten von Stützzellen und Bowman-Drüsen bilden die Zilien den Riechsaum (Andres, 1966, 1969; Seifert, 1970; Abb. 17 oben).

Morphologisch scheinen die olfaktorischen Rezeptorzellen sehr einheitlich zu sein, obwohl für Fische (Muller und Marc, 1984), Ratte (Jourdan, 1975) und Mensch (Moran et al., 1982a, b) strukturell unterschiedliche olfaktorische Rezeptorzelltypen gezeigt wurden. In neuerer Zeit ist mit Hilfe von immunhistochemischen Methoden auf das Vorhandensein von Subklassen olfaktorischer Rezeptorzellen hingewiesen worden (Allen und Akeson, 1985a, b; Fujita et al., 1985; Mollicone et al., 1985; Mori et al., 1985; Schwob und Gottlieb, 1986). Dasselbe trifft für die Rezeptorzellen des Vomeronasalorgans zu (Immura et al., 1985; Mori et al., 1987). Diese Studien zeigen, daß bestimmte monoklonale oder gereinigte polyklonale Antikörper (Mollicone et al., 1985) Antigene auf spezifischen, aber nicht auf allen olfaktorischen Rezeptorzellen erkennen. Eine Tatsache, für die schon seit Jahren Hinweise aus physiologischen Studien existieren (Moulton, 1976), in denen demonstriert wurde, daß verschiedene Rezeptorzellen unterschiedliche elektrophysiologische Antworten auf gleiche Gerüche zeigten.

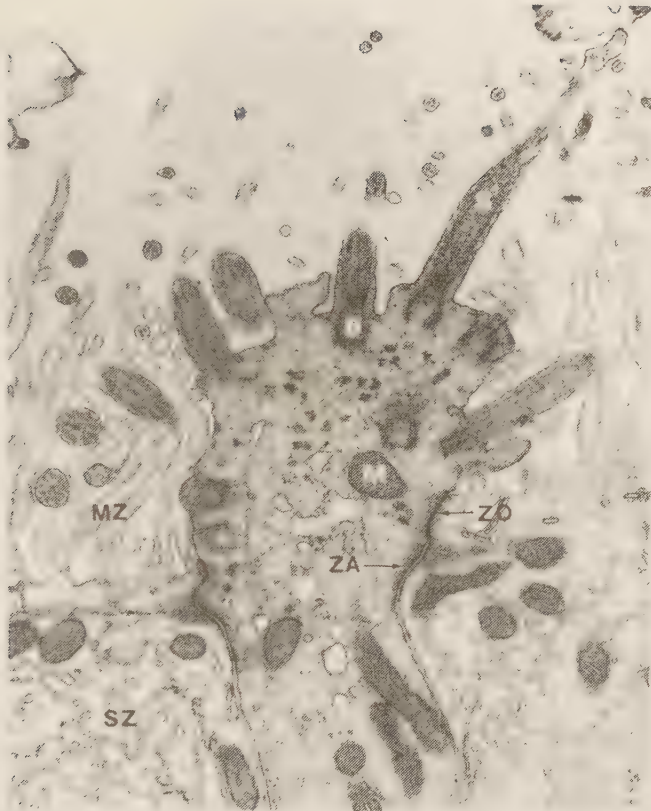


Abb. 5: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Sinneskolbens: S = Sinnesgeißeln, B = Basalkörper, M = Mitochondrien, ZO = Zonula occludens, ZA = Zonula adherens, SZ = Stützzelle, MZ = Mikrozoiten. Vergrößerung: 29000-fach.

Die Stützzellen schließen das Epithel nach oben ab und ihre Ausläufer reichen bis auf die Basalmembran. Zur freien Oberfläche tragen die Stützzellen einen feinen Besatz aus Mikrovilli (Abb. 5). Diese Zellfortsätze sind unregelmäßig gewunden und können in ihrem Ansatz mehrfach verzweigt sein. Die Stützzellen sind durch Exozytose zur Sekretion befähigt. Sie werden apikal durch Schlußleisten untereinander und mit den Dendriten der Sinneszellen verbunden (Abb. 5). Die Schlußleisten schließen die Interzellularspalte kontinuierlich gegen den Riechsaum ab und sind dreiteilig gebaute Verbindungskomplexe mit Zonula occludens, Zonula adherens und Macula adherens

(Seifert, 1970). Um die Stützzellkörper sind ringförmig die Dendriten der Sinneszellen angeordnet (Graziadei und Monti Graziadei, 1979). Vermehrung und Ersatz der Stützzellen erfolgt in der oberen Epithelhälfte durch Mitosen in situ. Gegen Stützzellen der Ratte konnten monoklonale Antikörper hergestellt werden, mit denen auch Zellen in der Propria anfärbbar sind (Hempstead und Morgan, 1983).

Die bereits im Epithel in kleinen Bündeln zusammengefaßten Axone der olfaktorischen Rezeptorzellen werden an der Basalmembran von Hüllzellen der Fila olfactoria übernommen, die sie weiterhin mit schmalen Mesaxonen in Bündeln eingefaßt halten. Die eigentlichen Fila olfactoria entstehen in der Propria durch weitere Zusammenlagerung dieser Bündel. Die Struktur der olfaktorischen Nervenbündel weicht deutlich von der anderer markloser Nervenfasern ab. Die unterschiedlich dicken Axone sind ohne sichtbare Zwischenlagerung einer isolierenden Substanz in Bündeln bis über hundert Axone zusammengelagert. Die Fila olfactoria treten durch das Siebbein in die Schädelhöhle ein und erreichen hier den Bulbus olfactorius.

1.1.4. Bulbus olfactorius

Die zweite Station im olfaktorischen System nach dem Riechepithel ist der Bulbus olfactorius, der den rostralen Teil des Telencephalons darstellt. Hier werden die Signale der Rezeptorzellen gesammelt und über sekundäre olfaktorische Neuronen weitergeleitet. Deutlich ist im histologischen Schnitt die geschichtete Struktur des Bulbus olfactorius zu erkennen (Abb. 2, 13). Die verschiedenen Schichten sind dabei konzentrisch um den lateralen Ventrikel gelegen. Die äußerste Schicht besteht aus den Axonen der Rezeptorzellen, die ein Geflecht um den gesamten Bulbus bilden. Ihre Endigungen sammeln sich in den auffälligen, runden Glomeruli der zweiten Schicht, wo sie mit den Dendriten der periglomerulären Zellen und der Projektionsneuronen (Pinzel- und Mitralzellen) Synapsen bilden. Die darunter liegende zellarme, externe plexiforme Schicht wird von der Schicht der eng gepackten Mitralzellen abgelöst und diese ist wiederum von den Schollen der granulären Zellen durch die sehr schmale interne plexiforme Schicht abgesetzt. Innen liegt um den lateralen Ventrikel die sogenannte periventriculäre subependymale Zone, in der die afferenten und efferenten Axone des Tractus olfactorius verlaufen. Als der ersten Schaltstation der Riechbahn kommt dem Bulbus olfactorius besondere Bedeutung zu, da hier eine starke Konvergenz olfaktorischer Afferenzen stattfindet. Beim erwachsenen Kaninchen treten in einem

Glomerulum (insges. ca. 1900) die Axone von 26 000 Rezeptorzellen (insges. ca. 50×10^6) zusammen. Ein Glomerulum wiederum enthält die Dendriten von 24 Mitralzellen (insges. ca. 45 000) und 68 Pinselzellen, (Allison und Warwick, 1949). Trotz dieser großen Zahl von Rezeptorzellaxonen scheint die Projektion sowohl räumlich wie auch funktionell geordnet zu sein, da einerseits benachbarte Epithelstreifen zu benachbarten Glomeruli projizieren (Astic et al., 1987; Clancy et al. 1985; Land, 1973; Land und Shepherd, 1974; Saucier und Astic, 1986) und andererseits die Axone weit verstreuter Rezeptorzellen auf einzelne Glomeruli konvergieren (Le Gros Clark und Warwick, 1946; Le Gros Clark, 1950, 1951; Pedersen et al., 1986; Stewart und Pedersen, 1987).

Die Mitralzellen bilden das zweite Neuron der Riechbahn, dessen Axone zusammen mit denen der Pinselzellen über den Tractus olfactorius zu den nachgeschalteten olfaktorischen Zentren führen. Zu diesen sekundären olfaktorischen Strukturen zählen u.a. der geschichtete anteriore olfaktorische Nucleus, der sich anschließende piriforme Kortex mit dem benachbarten Tuberculum olfactorium und weiter kaudal der anteriore kortikale Kern der Amygdala mit dem benachbarten entorhinalen Kortex. Der anteriore olfaktorische Nucleus steht mit dem kontralateralen Bulbus olfactorius über die vordere Kommissur in Verbindung, wodurch ein erster Informationsaustausch zwischen beiden Seiten stattfindet (Lohman und Mentink, 1969; Macrides und Davis, 1983). Im Gegensatz zu allen anderen Sinnesmodalitäten, die über thalamische Kerne in spezifische Regionen der Großhirnrinde projizieren, erreicht die Geruchsinformation schon mit dem zweiten Neuron der Riechbahn (Mitral- bzw. Pinselzelle) kortikale Strukturen (Castelluci, 1986). Hier geht auch die topologische Ordnung der primären Projektionen verloren, da sich die Axone der Mitral- und Pinselzellen geflechtartig mit Kollateralen über den gesamten olfaktorischen Kortex ausbreiten.

1.2. Postnatale Entwicklung des olfaktorischen Epithels

Im Riechepithel von Säugetieren sind schon vor der Geburt olfaktorische Neuronen ausgereift. Das Epithel neugeborener Tiere ist voll funktionsfähig und unterscheidet sich in seiner Morphologie kaum mehr von dem adulter Tiere (Farbman, 1986; Cushieri und Bannister, 1975a, b). Dies veranlaßte frühere Autoren anzunehmen, das Epithel sei zum Zeitpunkt der Geburt vollständig angelegt (Frühwald, 1935). Der überwiegende Teil der Sinneszellen entsteht jedoch erst postnatal, da nicht nur die

Ausdehnung des Riechepithels, sondern auch die Zahl der Neuronen pro Flächeneinheit nach der Geburt noch erheblich zunimmt (Meisami et al., 1986). Bei Mäusen wurde gezeigt, daß pränatale Mitosen zunächst im apikalen Teil des Epithels auftreten, später in allen Schichten und postnatal fast ausschließlich in der basalen Epithelschicht stattfinden (Smart, 1971). Bei der Ratte wurde ein Epithelflächenwachstum bis zum 29. Lebensmonat und eine Zunahme der Rezeptorzelldichte bis zum 18. Lebensmonat beobachtet (Hinds und Mc Nelly, 1981). Beim Kaninchen verdreifacht sich die Epitheloberfläche im ersten Lebensmonat und die Epitheldicke nimmt um 60% zu. Die Zunahme der Dicke ist vor allem Ausdruck einer erhöhten Zahl von Rezeptorzellen pro Flächeneinheit (Meisami et al., 1986). Das bedeutet, daß der überwiegende Teil der olfaktorischen Rezeptorzellen erst postnatal entsteht (Andres, 1966).

1.2.1. Regeneration der olfaktorischen Rezeptorneuronen

Auch nach Abschluß der Ontogenese wird der vergleichsweise undifferenzierten Basalzelle (Blastemzelle) noch die Fähigkeit zur Neubildung von Rezeptorzellen zugesprochen (Andres, 1965; Nagahara, 1940). Es handelt sich dabei um intermitotische Zellen, deren Teilungsprodukte zeitlebens zugrundegehende Rezeptorzellen ersetzen. Das olfaktorische Epithel verhält sich dabei ähnlich wie embryonales Gewebe. Auch nach Zerstörung von außen ist eine Regeneration möglich (Schultz, 1941, 1960; Takagi, 1971). Da der Begriff der Regeneration im ZNS der axonalen Regeneration vorbehalten ist (Guth, 1975) empfiehlt sich für den Fall der olfaktorischen Rezeptorzelle, in dem die gesamte Zelle mit ihren Fortsätzen ersetzt werden kann, eher der Begriff "Rekonstitution" (Monti Graziadei und Graziadei, 1979).

So konnte gezeigt werden, daß nach Spülung der Nasenhöhle mit einer wässrigen 1%igen ZnSO_4 Lösung selektiv das olfaktorische Epithel geschädigt wird. Es kommt zur Koagulationsnekrose des Epithels bis zur völligen Demaskierung der Basalmembran (Schultz, 1960). Das respiratorische Epithel ist davon kaum betroffen (Matulonis, 1975). Eine solche Zerstörung führt zu verstärkter Mitoseaktivität im Basalzellager und nach 1-2 Monaten ist das Epithel vollständig wieder hergestellt (Mulvaney und Heist, 1971b; Matulonis, 1981). Auch eine funktionelle Wiederherstellung scheint möglich zu sein (Harding et al., 1978). Durch Verabreichung von N-methyl-formi-

mino-Methylester sind ähnliche Effekte möglich, wobei hier ausschließlich die Sinneszellen des Riechepithels betroffen sind (Rehn et al., 1981). Auch verschiedene Mitosehemmer (Hydroxyurea, Colchicin, etc.) führen zu degenerativen Effekten am olfaktorischen Epithel mit Funktionsausfällen und nachfolgender Rekonstitution und funktioneller Wiederherstellung (Harding und Wright, 1979).

Nach Entfernung des Bulbus olfactorius (Bulbektomie) oder einer Unterschneidung der peripheren Bulbusafferenzen (Fila olfactoria) findet man eine retrograde Degeneration all der Rezeptorzellen, deren Axone durchtrennt wurden (Lustig, 1884). Der zeitliche Verlauf der Degeneration ist abhängig von der Lokalisation der Durchtrennung (Doucette et al., 1983). Innerhalb weniger Tage verliert das Epithel deutlich an Höhe und besteht nur noch aus Stützzellen, Basalzellen und unreifen Neuronen. Gleichzeitig kommt es zu einer stark erhöhten Mitoserate in den basalen Epithelbereichen und dadurch zur Rekonstitution des Epithels. Dieses Phänomen konnte bei allen bisher untersuchten Wirbeltierklassen gezeigt werden, selbst bei Primaten (Graziadei et al., 1980). Innerhalb von wenigen Wochen wird dann das Bulbusgewebe durch die Axone neu ausgebildeter Rezeptorzellen reinnerviert und das Epithel sowohl morphologisch als auch funktionell vollständig wiederhergestellt (Costanzo, 1984, 1985; Costanzo und Graziadei, 1983; Graziadei et al., 1980; Harding et al., 1977, 1978; Hudson und Distel, 1988; Samanen und Forbes, 1984; Simmons und Getchell, 1981a, b; Winans und Powers, 1977). Das Axon der olfaktorischen Rezeptorzelle ist bei dieser Reinnervation interessanterweise nicht unbedingt auf das Vorhandensein eines spezifischen "Zielgewebes" angewiesen. So bilden reinnervierende Axone nach vollständiger Entfernung des Bulbusgewebes im Bereich des Vorderhirns glomerulum-ähnliche Strukturen aus (Graziadei et al., 1978, 1979; Graziadei und Monti Graziadei, 1983; Graziadei und Samanen, 1980).

1.2.2. Regulation der Neurogenese im Riechepithel

Die wohl interessanteste Eigenschaft des olfaktorischen Epithels ist die begrenzte Lebensdauer seiner Rezeptorzellen und die damit verbundene physiologische Neurogenese, die notwendig ist, um die Zahl der Rezeptorzellen relativ konstant zu halten. Zur Lebensdauer der olfaktorischen Rezeptorzelle gibt es unterschiedliche Befunde. Man konnte zeigen, daß nach Injektion von radioaktiv markiertem Thymidin noch nach über 90 Tagen markierte Zellen zu finden sind (Hinds et al., 1984; Moulton, 1970).

Im Gegensatz dazu fanden Graziadei und Monti Graziadei (1979) schon einen Monat nach Injektion keine markierten Zellkerne mehr und schlossen daraus, daß die Lebensdauer der Rezeptorneuronen nur maximal 30 Tage sei. Die Regulation dieser ständigen physiologischen "Zellmauser" mit Zelluntergang und Neurogenese ist unbekannt.

Verschiedene äußere und innere Faktoren scheinen in der Lage zu sein, die Neurogeneserate der olfaktorischen Rezeptorzellen durch Veränderung ihrer Lebensdauer zu beeinflussen (Breipohl et al., 1986). Von einem Autor wurde daher das Vorhandensein eines "olfaktorischen Chalons" postuliert, das als eine die Mitose hemmende Substanz regulierenden Einfluß haben könnte (Metcalf, 1974). Es ist somit wahrscheinlich, daß die Mitoserate der Progenitorzellen beispielsweise durch Anwesenheit oder Fehlen von reifen Rezeptorneuronen oder deren Zelltod reguliert werden kann. Diese Regulation könnte auch unter lokaler Kontrolle stattfinden, da die Mitoserate im olfaktorischen Epithel normalerweise an verschiedenen Stellen unterschiedlich stark ausgeprägt ist (Breipohl et al., 1986; Graziadei und Monti Graziadei, 1979). Außerdem scheinen sich immer die Mehrzahl der Axone olfaktorischer Rezeptorzellen eines Nervenbündels im selben Turnover-Stadium zu befinden (Hafner, 1987). Auch zwischen endokrinem und olfaktorischem System sind enge Beziehungen bekannt. Störungen des Geruchssinns werden bei Menschen mit Imbalancen von Schilddrüsen-, Gonaden- oder Nebennierenhormonen und bei Störungen des Glucosemetabolismus beobachtet (Henkin, 1975; Jorgensen und Buch, 1961; Kallman et al., 1944; Marshall und Henkin, 1971; McConnel et al., 1975). Obwohl über die Mechanismen dieser Störungen wenig bekannt ist, ist es in den meisten Fällen wahrscheinlich, daß ein Zusammenhang mit der Proliferation und Ausreifung von olfaktorischen Rezeptorzellen besteht (Breipohl et al., 1986). Genauer ist nur bei Mäusen mit experimentell induziertem Hypothyreoidismus bekannt. Es kann bei ihnen durch verminderte Zellproliferation im olfaktorischen Epithel bis zum Verlust des Geruchssinns kommen (Beard und Mackay-Sim, 1987; Mackay-Sim und Beard, 1987). Bei weiblichen Ratten wurden Schwankungen der Proliferationsrate des Neuroepithels im Vomeronasalorgan in Abhängigkeit vom Sexualzyklus beschrieben (Kaba et al., 1988).

Zwei Methoden werden angewandt, um die Auswirkungen von sensorischer Stimulation auf die morphologische und funktionelle Entwicklung des olfaktorischen Systems zu untersuchen. Zum einen wird versucht, Tiere während der Ontogenese für längere Zeit nur einem dominierenden Geruchsstoff auszusetzen, zum anderen, ihre Geruchserfahrung einzuschränken; dies wird am wirkungsvollsten durch Verschuß einer Nasenöffnung erreicht.

Die ersten Untersuchungen zur Entwicklung des Bulbus olfactorius unter kontrollierten Duftbedingungen wurden von Døving und Pinching (1973) berichtet. Ratten wurden in Kunststoffkäfigen gehalten und jeweils (außer den Eigengerüchen) einem von 44 Einzelgerüchen für 1-12 Wochen ausgesetzt. Man fand in bestimmten Regionen des Bulbus olfactorius eine Degeneration von Mitralzellen, die durch Verdichtungen von Zytoplasma und Zellkern, durch Schrumpfung der gesamten Zelle, Vakuolenbildung und durch dichtere Packung der Neurotubuli in den Dendriten charakterisiert war. Diese Gebiete waren, auch wenn sie teilweise überlappten, für die verschiedenen Gerüche spezifisch angeordnet (Pinching und Døving, 1974). Ähnliche Veränderungen wurden auch bei Mäusen (Harvey und Cowley, 1984) und später bei Ratten wiederholt beobachtet (Panhuber, 1986; Panhuber et al., 1987). Auch mit elektrophysiologischen Methoden konnte man unterschiedliche neuronale Aktivitätsmuster bei solchen Tieren identifizieren (Reinken und Schmidt, 1987).

Um zu klären, ob solche Veränderungen tatsächlich im Sinne einer räumlichen Repräsentation für die Wahrnehmung bestimmter Gerüche von funktioneller Bedeutung sind, untersuchten Laing und Panhuber (1978) die Fähigkeit zur Geruchswahrnehmung solcher Tiere. Ihr Ergebnis war, daß es keinen Unterschied zwischen diesen Tieren und Kontrolltieren gab. Dabei darf allerdings nicht unerwähnt bleiben, daß die Mitralzellveränderungen nach Verbringen der Tiere in normale Umgebung reversibel sind. Es ist anzunehmen, daß solche Veränderungen eine Folge verminderter Stimulation verschiedener Bulbusareale sind und daher mit anderen aktivitätsabhängigen Effekten während der Ontogenese des Zentralnervensystems vergleichbar sein könnten (Reaser, 1987). Auch wurde kürzlich an neugeborenen Ratten gezeigt, daß eine

spezifische Geruchserfahrung auch dazu führen kann, daß einzelne Glomeruli größer werden und die Zahl ihrer periglomerulären Interneuronen zunimmt (Leon, 1987).

1.3.2. Olfaktorische Deprivation durch Verschluß einer Nasenöffnung

Im olfaktorischen System erreicht man eine funktionelle Deprivation am einfachsten durch einseitiges Verschließen einer Nasenöffnung. Da die olfaktorischen Rezeptorzellen ihre axonalen Endigungen nur zum ipsilateralen Bulbus olfactorius projizieren, erhält man dadurch im selben Tier einen deprivierten und einen "normal" stimulierten Bulbus. Dafür spricht u.a., daß sich die Bulbi der offenen Seite von normalen Bulbi gleichaltriger Kontrolltiere in keiner Weise unterscheiden. Mit dieser Methode wurden schon vor über 100 Jahren Untersuchungen durchgeführt. So fand Gudden (1870) bei 6-8 Wochen alten Kaninchen, denen ein Nasenloch kurz nach der Geburt operativ verschlossen wurde, eine Minderentwicklung des entsprechenden "Nervus, Bulbus und Tractus olfactorius". Sechzig Jahre später zeigte Frühwald (1935) an Kaninchen, die von der 4. bis zur 14. Woche depriviert wurden, ähnliche Effekte. Genauere Untersuchungen mit morphometrischen und neurochemischen Methoden wurden erst in neuester Zeit durchgeführt (Brunjes und Frazier, 1986). Bei Ratten hat eine unilaterale Deprivation während des ersten Lebensmonats einen um durchschnittlich 25% kleineren Bulbus olfactorius auf der verschlossenen Seite zur Folge (Meisami, 1976, 1978). Diese reduzierte Größenentwicklung geht mit einem verminderten Dickenwachstum in fast allen Schichten des Bulbus einher. Der größte Effekt ist in der externen plexiformen Schicht zu finden (Benson et al., 1984; Brunjes, 1985; Brunjes and Borror, 1983). Auch die Schicht der granulären Zellen ist stark betroffen und ihre Schollenstruktur ist erheblich weniger ausgeprägt (Skeen et al., 1985), doch scheint die ventrikuläre subependymale Zone auf der deprivierten Seite relativ dicker zu sein (Benson et al., 1984). Untersuchungen zum zeitlichen Verlauf solcher Veränderungen zeigten, daß bei der Ratte ein Verschluß der Nasenöffnung nach dem 30. Lebenstag keinen Einfluß mehr auf die Größenentwicklung des Bulbus olfactorius hat (Brunjes, 1985).

Bezüglich deprivationsbedingter Effekte auf die absolute Zahl von Neuronen im Bulbus olfactorius wurden unterschiedliche Ergebnisse berichtet. Meisami und Safari (1981) fanden bei der Ratte eine 26%ige Reduktion der Zahl der Mitralzellen und eine um 46% geringere Zahl der Pinselzellen. Die noch vorhandenen Mitralzellen waren in

ihrer Größe reduziert und ihr apikaler und basaler Dendrit waren kürzer als auf der normalen Seite (Meisami und Noushinfar, 1986). Für die Pinselzellen wurden bei Mäusen vergleichbare Ergebnisse berichtet (Skeen et al., 1986). Doch fanden Benson et al. (1984) eine unveränderte Zahl von Mitralzellen, deren Größe ebenfalls vermindert war und eine geringere Zahl von synaptischen Verbindungen in den Glomeruli. Von den granulären Zellen werden interessanterweise nur die sogenannten hellen Zelltypen von der Deprivation betroffen (Skeen et al., 1985). Schließlich konnte gezeigt werden, daß bei deprivierten Tieren die Zahl und Größe der Glomeruli unverändert bleibt (Meisami und Safari, 1981), aber ihre Struktur weniger komplex ist (Benson et al., 1984).

An depriviertem Bulbusgewebe wurden auch neurochemische Untersuchungen vorgenommen. So berichten Meisami und Mousavi (1982), daß deprivierte Bulbi einen reduzierten Protein-, RNA- und DNA-Gehalt aufweisen; allerdings waren nur die absoluten Werte reduziert, nicht jedoch der Gehalt pro Volumeneinheit. Während die Na-K-ATPase Aktivität vermindert war, blieb die AChEsterase Aktivität unverändert. Eine signifikante Verminderung des Dopamingehaltes (-33%) wurde schon am 7.Tag nach dem Verschluß einer Nasenöffnung festgestellt, was auf Veränderungen der dopaminergen Zellen in der periglomerulären Schicht hinweist. Der Norepinephrin-gehalt dagegen blieb unverändert (Brunjes et al, 1985).

Mit Hilfe der (^{14}C) 2-Desoxyglucose-Methode, mit der man die in vivo Aufnahme von Glucose autoradiographisch darzustellen vermag, konnte u.a. gezeigt werden, daß der deprivierte Bulbus eine weitaus geringere metabolische Aktivität aufweist als der "normale" (Benson et al., 1984; Sharp et al., 1975). Bis heute wurde über keine Experimente mit vorübergehendem Verschluß berichtet, obwohl eine solche Technik Untersuchungen zur Erholungsleistung und zur funktionellen Kapazität des deprivierten Bulbus ermöglichen würde (Brunjes und Frazier, 1986).

1.4. Ziel dieser Arbeit

Die nach Deprivation am Bulbus gefundenen Veränderungen werden grundsätzlich auf fehlende oder verminderte sensorische Stimulation der olfaktorischen Rezeptorzellen zurückgeführt. Jedoch fehlen eindeutige Befunde zur Entwicklung des olfaktorischen Epithels unter Deprivationsbedingungen. So fanden Benson et al. (1984) nach 30

Tagen Deprivation keine Veränderungen am olfaktorischen Epithel der Maus; Farbman et al. (1984, 1985) dagegen berichten über eine 18%ige Reduktion der Zellkerne im deprivierten olfaktorischen Epithel der Ratte.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, genauer zu überprüfen, ob Deprivation durch Nasenverschluß die Entwicklung des Riechepithels von Kaninchen beeinflussen kann. Der einseitige Nasenverschluß bei neugeborenen Tieren scheint hierfür als experimenteller Ansatz besonders geeignet zu sein, da ein intraindividueller Vergleich der verschlossenen mit der beatmeten Seite möglich ist.

Für diese Studie werden als Versuchstiere Kaninchen verwendet, denn ihre Jungen zeigen beim Säugen ein Verhaltensmuster, welches sie bedingungslos vom Geruchssinn abhängig macht und sie so für Untersuchungen des olfaktorischen Systems besonders geeignet erscheinen läßt (Hudson, 1988). Es handelt sich hierbei um das sog. "Zitzen-suchverhalten" ein spezifisches, nur bei dieser Tierart in dieser Form bekanntes Verhalten, das durch die Wahrnehmung eines von der Bauchhaut der Mutter ausgehenden Pheromons ausgelöst wird (Hudson und Distel, 1986a). Die Wahrnehmung dieses Pheromons erfolgt jedoch nicht, wie man das von den meisten Pheromonen annimmt, über das akzessorische olfaktorische System (Vomeronasalorgan), sondern über das olfaktorische Epithel des Hauptsystems (Hudson und Distel, 1986b). Darüber hinaus hat das Kaninchen als klassisches Versuchstier den Vorteil, daß die Anatomie und Physiologie des olfaktorischen Systems gut untersucht sind und damit eine Interpretation der experimentellen Ergebnisse erleichtert wird. Die hier zu berichtenden Untersuchungen geben erste Hinweise auf eine Wirkung exogener Faktoren auf die Entwicklung des Riechepithels und werfen daher auch Fragen zu den Mechanismen der exogenen Regulation der Neurogenese im Riechepithel auf.

2. Material und Methodik

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) eines etablierten, rezessiv braunen Chinchillastammes (Chbb) der Fa. Thomae, Biberach. Die Tiere wurden in den Versuchstierställen des Instituts für Medizinische Psychologie, München gezüchtet. Insgesamt wurden 46 Tiere verwendet, von denen 33 zu den Ergebnissen beitrugen: sieben neugeborene, vier 10 Tage alte, zwanzig 30 Tage alte und zwei adulte Tiere. Von diesen wurden für die Untersuchung des normalen Zustands des olfaktorischen Epithels und der Nasenhöhle sieben Tiere verwendet: drei neugeborene, drei 30 Tage alte und ein adultes Tier. Bei allen übrigen Tieren wurden Eingriffe vorgenommen, entweder, um einen dauerhaften (9 Tiere) oder einen vorübergehenden Verschuß (8 Tiere) des Nasenlochs zu erreichen (vgl. Abb. 8). Für die funktionelle Überprüfung des Verschlusses bzw. des Deprivationseffekts wurden acht Tiere verwendet. Die restlichen 13 Tiere erwiesen sich für diese Arbeit als ungeeignet, weil sie Anzeichen von Rhinitis zeigten, der Nasenverschluß unvollständig oder aber die histologische Qualität bzw. Fixation des Gewebes unzureichend war, und diese Fälle daher nicht ausgewertet werden konnten.

2.2. Operative Methoden

Alle Tiere wurden vor den invasiven Eingriffen, d.h. Verschuß der äußeren Nasenöffnung oder Entfernung eines Bulbus olfactorius, anästhesiert. Die Eingriffe nahmen jeweils weniger als 20 Minuten in Anspruch, so daß eine Kurzzeitanarkose ausreichend war. Dies geschah entweder durch eine kombinierte Injektion von Xylazin und Ketamin (4 mg/kg Rompun® und 30 mg /kg Ketavet® i.m.) oder durch eine Kühlnarkose.

Als eine die Tiere am wenigsten belastende Kurzzeitanarkose eignet sich beim neugeborenen Kaninchen die Kühlnarkose, bei der die Tiere für ca. acht Minuten in Eiswasser gehalten werden. Diese Methode kann bei Kaninchen bis zum 7. Lebenstag angewendet werden, da erst dann eine endogene thermoregulatorische Steigerung der Körpertemperatur möglich ist. Nach dem Eingriff wurden die Tiere in körperwarmem Leitungswasser für ca. 10 Minuten aufgewärmt, sorgfältig getrocknet und zurück ins Nest zu normalen Wurfgeschwistern gesetzt. Dort erholten sich die Tiere innerhalb

von 30 Minuten vollständig. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie keine pharmakologischen Nebenwirkungen hat und daß während der Operationen so gut wie keine Blutungen auftreten.

Zur Durchführung des operativen Nasenverschlusses wurde zunächst die Nasenöffnung gereinigt. Dann wurde die kutane Schleimhaut am Übergang von äußerer Haut ins Vestibulum nasi ringförmig durchtrennt und ein etwa 1 mm breiter Hautstreifen mit einer feinen Schere entfernt. Außerdem wurde vom jetzt freiliegenden dorsalen Nasenknorpel der vordere Teil abgetrennt. Für den Verschuß fand eine rückläufige, senkrecht zur Nasenlochspalte geführte U-Naht Verwendung, die eine flächenmäßig gute und sichere Adaptation der Wundränder gewährleistete. Um das zarte Gewebe der äußeren Nase nicht mehr als notwendig zu traumatisieren, wurde ein resorbierbares Nahtmaterial mit angeschweißter Nadel verwendet (Vicryl® 1,5 metric, Fa. Ethicon). Beim Knüpfen des Hefts rollten sich die Wundränder nach außen auf und bildeten einen Kamm. Mit dieser Methode erreichte man in fast allen Fällen einen sicheren und dauerhaften Nasenverschluß (Abb. 6). Um einen reversiblen Nasenverschluß zu erhalten, wurde in analoger Weise vorgegangen ohne jedoch eine Wunde zu setzen bzw. einen Hautstreifen zu entfernen. Zusätzlich zum U-Heft erfolgte eine Adaptation der Nasenflügel mit Gewebekleber (Histoacryl® blau, Fa. Braun). Die Wiederöffnung erfolgte durch einfaches Durchtrennen und Entfernen des Nahtmaterials, wodurch die Nasenhöhle unmittelbar für Atemluft wieder passierbar wurde.

Für die funktionelle Überprüfung des Verschlusses bzw. der Deprivation wurde es notwendig, bei mehreren Tieren den Bulbus olfactorius der offenen Seite zu entfernen, da so sichergestellt war, daß Geruchsreize nur über die verschlossene bzw. wiedereröffnete Nasenseite wirken konnten. Dazu wurde zunächst im vorderen Bereich des Os frontale die Kopfhaut paramedian längs durchtrennt. Dann wurde das Schädeldach über dem Bulbus olfactorius mit einem Skalpell eröffnet und die Hirnhäute mit einer Kanüle durchstoßen. Die Entfernung des Bulbusgewebes erfolgte durch Absaugen mit einer feinen Saugpipette unter Sichtkontrolle (Zeiss Operationsmikroskop). Nachdem die Läsion gesetzt war, wurden das Periost und die äußere Haut adaptiert und mit Gewebekleber (s.o.) verschlossen.

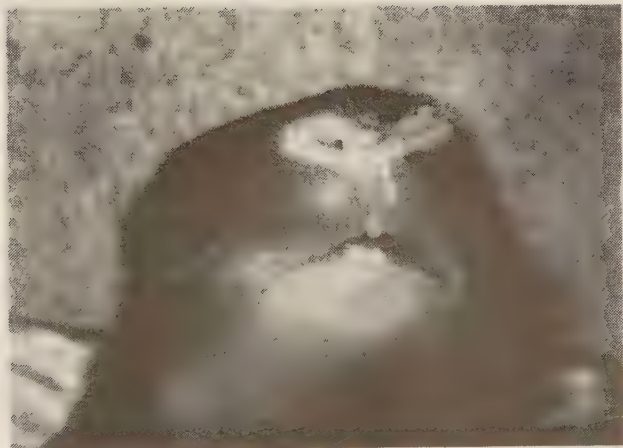


Abb. 6: Einseitiger Nasenverschluß bei einem Kaninchen. Oben: unmittelbar nach dem chirurgischen Eingriff am 1. Lebenstag. Unten: 30 Tage nach dem Verschluß. Durch Verwachsen der adaptierten Nasenflügel entstand ein fester Verschluß des Nasenlochs.

Zur Darstellung der Nasenhöhle und der in ihr vorkommenden bzw. ihr benachbarten Gewebearten wurde von zwei 30 Tage alten Tieren mit einseitigem Nasenverschluß der vordere Schädelteil in Bouins Lösung (siehe Anhang) vier Stunden fixiert. Nach der Entkalkung der Schädelknochen in 25% Ameisensäure / 7,5% Natriumcitrat wurde das Gewebe in Paraffin eingebettet, horizontal bzw. transversal in Serie geschnitten (10 μm) und jeder 10. Schnitt mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die Konservierung des sehr labilen Gewebes der Riechschleimhaut erfolgte durch eine Perfusionsfixation über die Blutbahn. Gute Ergebnisse wurden mit folgender Vorgehensweise erzielt: Nachdem die Tiere mit einem Tiertötungsmittel (T 61[®] 2 ml/kg) getötet worden waren, wurde der Thorax eröffnet. Um die Perfusion auf den Kopfbereich zu beschränken, wurde die Arteria thoracica abgeklemmt. Nun wurde nach Injektion von Heparin (2000 I.E./kg i.k.) ein Katheder über die linke Herzkammer in die Aorta ascendens eingeführt und das rechte Herzohr eröffnet. Nach der Perfusion mit körperwarmer Spüllösung (siehe Anhang) für etwa 20 Sekunden folgten 500 ml der auf 4 °C gekühlten Fixationslösung (siehe Anhang), wobei während der ersten 5 Minuten ein hydrostatischer Druck von 120 mm Hg eingehalten wurde, der dann auf etwa 60 mm Hg reduziert wurde.

Nach der Perfusion wurden die beiden Bulbi olfactorii herausgenommen und dann das Nasenseptum unter äußerster Schonung der Epitheloberflächen aus dem Schädel freipräpariert. Nach einer zusätzlichen Immersion des Septums in frischer Fixationslösung für zwei Stunden wurden in einer mit Phosphatpuffer gefüllten Petrischale Blöckchen von 2 x 3 mm Kantenlänge aus dem Septum mit einer Rasierklinge herausgeschnitten. Besondere Sorgfalt wurde darauf verwendet, diese Proben immer an denselben Septumstellen zu entnehmen und so zu präparieren, daß auch nach der Einbettung aufgrund des Umrisses der Proben (Abb. 7) eine Unterscheidung nach linker und rechter Epithelseite möglich war. Der zwischen den vier Probestücken liegende Septumstreifen wurde ebenfalls präpariert, in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Kunststoff (Technovit[®], Fa. Kulzer) eingebettet. Davon wurden mit einem Hartmetallmesser Semidünnschnitte (2 μm) angefertigt und diese mit Azur II und Methyleneblau gefärbt (Richardson et al., 1960, siehe Anhang). Diese Schnitte dienten hauptsächlich der Überprüfung des Fixationszustands.

Bei guter Fixation wurden die für die morphometrische Auswertung bestimmten Blöckchen (d, v, r, Abb. 7) in 1 %igem Osmiumtetroxid (siehe Anhang) für 2 Stunden nachfixiert und nach Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe in Epon bei 40° C flach eingebettet. Von diesen Blöcken wurden an einem Ultramikrotom mit Glasmessern in transversaler Schnittebene Semidünnschnitte (1 µm) angefertigt und nach Richardson gefärbt (s.o.).

Von zwei gut fixierten Blöckchen eines 30 Tage deprivierten Tieres wurden für die Elektronenmikroskopie Ultradünnschnitte angefertigt und auf Foliengrits aufgezogen. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat (20 Minuten bei 20°C) und Bleicilrat (10 Minuten bei 20°C) kontrastiert und mit einem EM 10 (Fa. Zeiss) betrachtet und fotografiert. Weiteres, bereits lichtmikroskopisch ausgewertetes Material von zwei deprivierten Tieren wurde für eine elektronenmikroskopische Aufarbeitung an Prof. Breipohl (Brisbane) abgegeben.

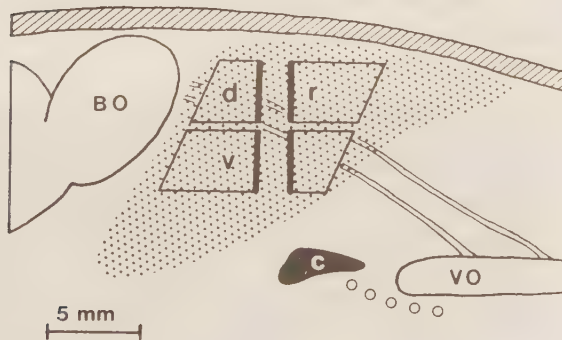


Abb. 7: Schematische Darstellung der Lage der vom Nasenseptum entnommenen Proben. Die dunklen Säulen entsprechen den Anschnittflächen der quantitativ ausgewerteten Septumstellen. BO = Bulbus olfactorius, VO = Vomeronasalorgan, C = Choane, d, r, v = Probestücke, OOO = lymphoretikuläres Gewebe.

Die experimentellen Bedingungen und Anzahl aller für die morphometrische Untersuchung verwendeten Tiere sind in Abb. 8 dargestellt. Von jedem Tier wurden von mindestens zwei Septumstreifen die am besten erhaltenen bzw. gefärbten Schnitte ausgewählt und im Lichtmikroskop (Leitz Dialux 20) bei 1250-facher Vergrößerung (Ölimmersion) quantitativ ausgewertet. Zu beiden Seiten des Septums wurden über eine Strecke von 1,1 mm alle Kerne der Rezeptor-, Basal- und Stützzellen des olfaktorischen Epithels und alle olfaktorischen Sinneskolben gezählt. Als Zählfeld diente eine Okularstrichplatte, deren Kantenlänge 110 μm entsprach (Abb. 9). Die Werte von je zehn Zählfeldern wurden gemittelt und sind in den Tabellen 1-8 (siehe Anhang) zu finden. Für die statistische Datenauswertung wurde ein parametrisches Testverfahren für abhängige Stichproben gewählt (t-Test), das als Rechnerprogramm (SPSS-X) am Leibnitz Rechenzentrum München zur Verfügung stand.

Die morphometrische Auswertung des olfaktorischen Saums (2 Fälle) erfolgte anhand von 52 elektronenmikroskopischen Aufnahmen (4000-fach), die von Prof. Breipohl zur Verfügung gestellt worden waren. Von diesem Material konnten 36 Sinneskolben auf der normalen Seite und 42 auf der verschlossenen Seite vermessen werden. Neben Durchmesser, Höhe und Fläche wurde die Zahl der Zilienabgänge, Basalkörper und Mitochondrien pro Sinneskolben ermittelt.

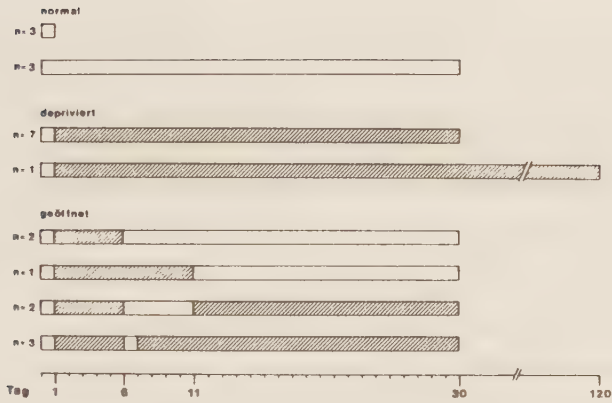


Abb. 8: Versuchsbedingungen, Anzahl und Alter der für die Morphometrie verwendeten Tiere. Die Schraffur gibt die Dauer des einseitigen Nasenverschlusses an. Normal = kein Eingriff, depriviert = permanenter einseitiger Nasenverschluss, geöffnet = einseitiger Nasenverschluss, der entweder dauerhaft oder zwischenzeitlich wiedereröffnet wurde, N = Zahl der Tiere.

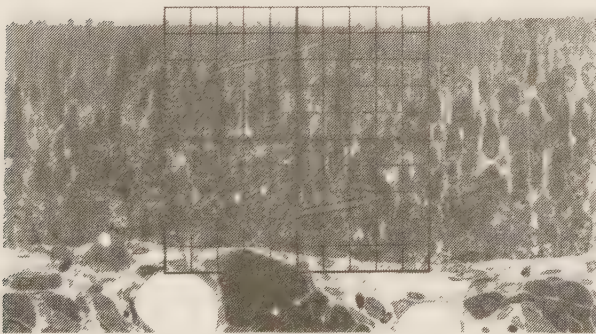


Abb. 9: Methode der morphometrischen Auswertung. Mikroskopbild mit überlagerter Okularstrichplatte (110 µm Kantenlänge) zur Zellzählung.

Um die Fähigkeit der Geruchswahrnehmung bei je vier Tieren mit einseitigem und wiedergeöffnetem Nasenverschluß zu überprüfen, wurde ein Verhaltenstest zur Pheromonwahrnehmung durchgeführt (Hudson und Distel, 1983). Dazu wurde eine pheromonproduzierende Häsin sediert und auf dem Rücken liegend in einem U-förmigen Trog fixiert, dessen Seiten zusammen mit zwei aufgesetzten Wänden eine Arena um die sechs hinteren Zitzen der Häsin bildeten. In dieser Testarena wurde jeweils ein Jungtier eingesetzt und das durch das Pheromon ausgelöste Zitzensuchverhalten beobachtet. Für jedes Tier wurden zehn Testdurchgänge von jeweils maximal 20 Sek. Dauer durchgeführt. Der Gesamtablauf wurde mit einer über der Arena angebrachten Videokamera dokumentiert. Die Auslösung von Zitzensuchverhalten wurde als ein positiver Hinweis für Geruchswahrnehmung gewertet (Distel und Hudson, 1984).

3.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der morphometrischen Auswertung basieren auf 88 Epithelstichproben (44 Septumstreifen) von insgesamt 22 Tieren, die sich wie folgt verteilen: sechs normale Tiere, acht Tiere mit einseitig verschlossenem Nasenloch (deprivierte Tiere) und acht weitere Tiere, bei denen der Nasenverschluß wieder geöffnet wurde. Die numerischen Ergebnisse aller Epithelstichproben sind in den Tabellen 1-8 (siehe Anhang) zu finden. Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen Gruppen beschrieben.

3.1. Normales Epithel (1. Lebenstag, 30. Lebenstag)

Das olfaktorische Epithel von Kaninchen ist makroskopisch an seiner dunkleren Färbung gut vom respiratorischen Epithel der Nasenhöhle zu unterscheiden (Abb. 1). Die Fläche, die es auf dem Septum nasi einnimmt, bildet in etwa ein gleichschenkliges Dreieck. Ein Schenkel wird vom Siebbein und der andere vom Nasendach begrenzt (Abb. 1 und 7). Seine rostro-kaudale Ausdehnung beträgt beim neugeborenen Tier etwa 11 mm, beim 30 Tage alten ungefähr 22 mm und beim adulten Tier etwa 28 mm.

Im mikroskopischen Bild hat das olfaktorische Epithel des Septums eine sehr gleichmäßige Ausprägung und eine relativ konstante Höhe. Sie betrug bei den drei einen Tag alten Tieren 65-75 μm und bei den drei 30 Tage alten Tieren 90-105 μm . Erst in dem etwa 100 μm breiten Übergangsbereich zum respiratorischen Epithel nahm seine Höhe rasch ab. Dieser Übergangsbereich war gekennzeichnet durch das Auftreten von Becherzellen im Epithel sowie durch das Verschwinden der Bowmanschen Drüsenzellen in der Lamina Propria. Die Blutgefäße in der Propria waren infolge der Perfusionsfixation maximal erweitert und meist völlig blutleer.

Die drei im Riechepithel vorkommenden Zelltypen waren in allen untersuchten histologischen Schnitten ohne Schwierigkeiten sowohl durch die Lage ihrer Kerne im Epithel als auch durch ihre Färbung zu unterscheiden. Jedoch zeigten die Zellkerne je nach Fixationszustand des Epithels unterschiedliche Formen. Die Gestaltsunterschiede reichten von runden bis zu mehr oder weniger eckigen Erscheinungsformen. Bei idealer Fixation hatten die in einer Reihe liegenden Perikarya der Stützzellen eine ovale Form und waren deutlich heller gefärbt als die mehr rundlichen, darunter-

liegenden Rezeptorzellperikarya. Aufgrund der dunkleren Färbung des zytoplasmatischen Anteils der Rezeptorzellen ließ sich auch deren spindelförmiger Zelleib gut abgrenzen. Teilweise waren Ausläufer der Rezeptorzellen bis auf die Epitheloberfläche zu verfolgen. Hier endeten sie in den lichtoptisch gut erkennbaren Sinneskolben, wobei eine zum Teil sehr unterschiedliche Größe und Morphologie zu sehen war. Die Basalzellen waren an ihren tief dunkel gefärbten, flachen Zellkernen zu unterscheiden und lagen der Basalmembran immer direkt auf (Abb. 4 und 13). Hellere Zellen, die ebenfalls in der basalen Zellschicht zu finden waren, wurden jedoch zusammen mit den Rezeptorzellen gezählt.

Bei keinem der Normaltiere war ein wesentlicher Unterschied zwischen rechter und linker Epithelseite in der Anzahl der Sinneskolben und Kerne von Rezeptorzellen oder der Kerne von Stützzellen und Basalzellen festzustellen. Bei den 30 Tage alten Tieren betrugen die gefundenen maximalen Differenzen an einer Septumstelle 6% für die Sinneskolben und 7% für die Rezeptorzellkerne (vergl. Abb. 10 und 15). Im Mittel waren diese Seitendifferenzen jedoch kleiner als 2%. Für die Stützzellen betrug die mittlere Seitendifferenz 3% und für die Basalzellen 8%. In keinem Fall ließ sich ein

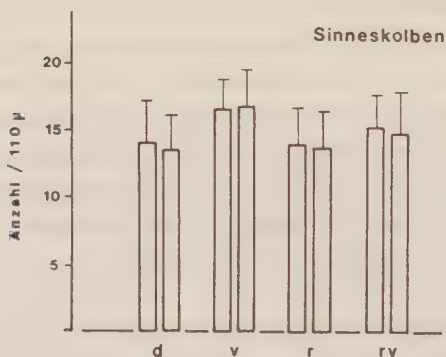


Abb.10: Quantitativer Seitenvergleich der olfaktorischen Sinneskolben von vier Septumstellen eines normalen Tieres. Aufgetragen sind gemittelte Werte und Standardabweichungen von gegenüberliegenden Epithelstreifen der rechten und linken Septumseite (vgl. Abb. 7). Beim Normaltier traten zwar quantitative Unterschiede zwischen verschiedenen Septumstellen auf; Links - Rechts- Unterschiede waren jedoch in keinem Falle zu finden.

statistisch signifikanter Unterschied zwischen rechter und linker Epithelseite feststellen. Auch waren die quantitativen Unterschiede zwischen rechter und linker Epithelseite einer Septumstelle geringer als die Unterschiede zwischen verschiedenen Septumstellen bei einem Tier (Abb. 10). Eine Ausnahme bildete jedoch die rostro-ventrale Septumstelle, die in mehreren Fällen respiratorisches Epithel enthielt und daher stärker variierte. Aus diesem Grunde wurde diese Stelle nicht in die weitere Analyse mit einbezogen.

Ein Vergleich zwischen Septumstellen der einen Tag alten und 30 Tage alten Tiere zeigte, daß die absolute Zahl der Zellen im olfaktorischen Epithel pro Zählfeld während der postnatalen Entwicklung zunahm (Abb. 15 und 16). Im Mittel erhöhte sich die Zahl der Rezeptorzellen um 44,1% und die der Basalzellen um 45% (von 39,9 auf 71,3 bzw. von 2,2 auf 4,0 pro Zählfeld). Die mittlere prozentuale Zunahme der Sinneskolben war nur wenig geringer als die der Rezeptorzellkerne und betrug 37,5% (von 11,1 auf 17,7 pro Zählfeld). Die geringste Zunahme fand sich mit 20% bei den Stützzellen (von 13,6 auf 17,0 pro Zählfeld). Dies bedeutet, daß das Dickenwachstum des Epithels während der ersten 30 Lebenstage vor allem auf eine Vermehrung der neuronalen Elemente zurückzuführen ist.

3.2. Unilateraler Nasenverschluß

3.2.1. Bulbus olfactorius

Schon die makroskopische Betrachtung des freigelegten Gehirns zeigte bei allen für 30 Tage unilateral deprivierten Tieren, daß der von der verschlossenen Nasenseite innervierte Bulbus olfactorius deutlich kleiner war als der Bulbus der offenen Seite (Abb. 11).

In zwei Fällen, in denen die Bulbi deprivierter Tiere geschnitten und gefärbt wurden, waren nicht nur die Anschnittflächen der linken Bulbi deutlich kleiner, sondern auch die Mächtigkeit und Morphologie der konzentrisch um den lateralen Ventrikel liegenden Schichten waren durch den postnatalen Nasenverschluß beeinträchtigt worden. Insbesondere waren die externe plexiforme Schicht und die Schicht der granulären Zellen deutlich dünner, und die für die granuläre Zellschicht typische Schollenstruktur war auf dieser Seite weniger deutlich ausgeprägt (Abb. 12).



Abb.11: **Dorsalansicht der Bulbi olfactorii eines für 30 Tage einseitig deprivierten Kaninchens.** Im Vergleich zur normalen Seite (links) ist das Wachstum des Bulbus olfactorius der verschlossenen Seite (rechts) deutlich zurückgeblieben. Balkenlänge = 1 mm.



Abb.12: **Transversalschnitt durch die Bulbi olfactorii.** Auch hier ist die verminderte Volumenausbildung des deprivierten Bulbus olfactorius (rechts) deutlich zu erkennen, die im Bereich der externen plexiformen Schicht (E) und in der Schicht der granulären Zellen (GZ) besonders ausgeprägt ist. F = Schicht der Fila olfactoria, G = Schicht der Glomerula olfactoria, M = Mitralzellenschicht, P = paraventriculäre Schicht. Paraffin-Schnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Balkenlänge = 1 mm.

3.2.2.

Olfaktorisches Epithel

- lichtmikroskopische Befunde

Der Vergleich der olfaktorischen Epithelien von normalen Tieren mit denen der offenen Seite von unilateral verschlossenen Tieren erbrachte keine grundlegenden Unterschiede. Die Zahl der Sinneskolben war mit durchschnittlich 17,7 bzw. 17,6 pro Zählfeld für beide Gruppen nahezu identisch (Abb. 15). In Bezug auf die Rezeptorzellen ergab sich für die offene Seite der deprivierten Tiere ein geringfügiger Unterschied, d.h. bei den deprivierten Tieren wurden auf dieser Seite 6% weniger Zellkerne als im Epithel von Normaltieren gefunden (im Mittel 66,4 statt 71,3; Abb. 15). Ähnliche prozentuale Unterschiede ergaben sich auch für die Basal- und Stützzellen (vergl. Abb. 16). Doch lagen alle Abweichungen innerhalb des normalen Streubereichs und waren in keinem Fall statistisch signifikant verschieden von dem Epithel normaler Tiere.

Das Riechepithel der verschlossenen Seite hatte im Mittel eine um 12,5% geringere Epithelhöhe als das der offenen Seite (85 μm gegenüber 97,5 μm). Die Epithelhöhe wies auf der deprivierten Seite relativ große Schwankungen auf und war teilweise bis zu 30% niedriger als auf der normalen Seite. Im morphologischen Aufbau des Epithels waren jedoch keine offensichtlichen Unterschiede zwischen offener und verschlossener Seite zu erkennen (Abb. 13).

Erst die Auszählung der Epithelbestandteile ergab auffällige Unterschiede. Die Abweichungen betrafen in erster Linie die Zahl der olfaktorischen Sinneskolben und die der Rezeptorzellkerne. Die Zahl der Sinneskolben war auf der verschlossenen Seite um durchschnittlich 25,4 % kleiner als auf der beatmeten Seite (Abb. 14,15 und 20). Dieser Unterschied war statistisch signifikant (t-Test, $p < 0,01$) und durchgehend bei allen Tieren und an allen untersuchten Stellen des Septumepithels zu finden. Es traten allerdings Schwankungen in der Ausprägung der Differenzen auf. Die größte Abweichung bei den Sinneskolben zwischen linker und rechter Epithelseite an einer Stelle betrug 41,5% und die niedrigste 10,2%. Aber auch diese geringste gefundene Seitendifferenz von 10,2% unterschied sich noch immer deutlich von der maximalen, bei Normaltieren gefundenen Differenz von 6% zwischen der rechten und linken Epithelseite (Abb. 20).

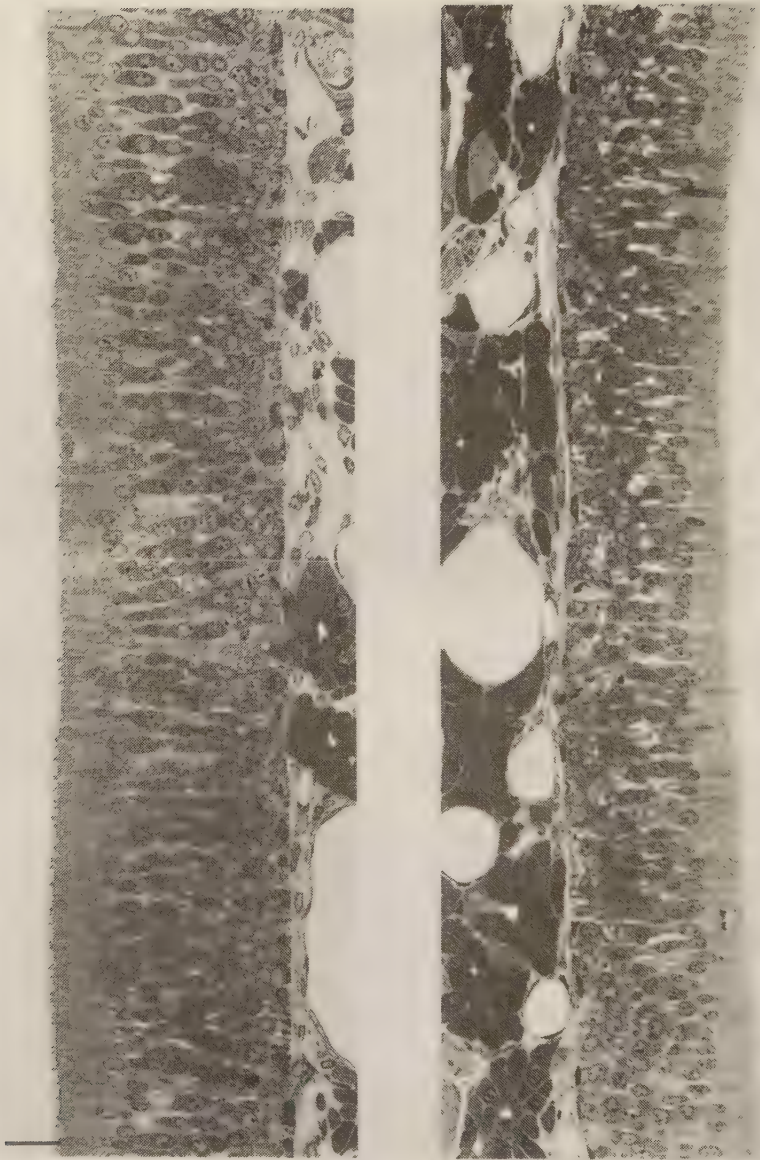


Abb.13: Olfaktorische Epithellen eines 30 Tage alten, unilateral deprivierten Kaninchens. Auf der deprivierten Seite (rechts) ist die gegenüber der normalen Seite (links) geringere Zellzahl, geringere Epithelhöhe und verminderte Zahl der Sinneskolben deutlich zu erkennen. Auf beiden Seiten sind sowohl in der basalen Epithelschicht als auch im Bereich der Stützzellen vereinzelte Mitosen zu finden. Epon-schnitt, Richardson-Färbung, Vergr. 500-fach, Öl-Immersion, Balkenlänge = 25 μ m.

Die Zahl der Rezeptorzellkerne war auf der deprivierten Seite im Mittel um 10,8 % niedriger als auf der normalen Seite (Abb. 15 und 20). Auch diese Abweichung war statistisch signifikant, wenn auch auf einem niedrigeren Niveau (t-Test, $p < 0,05$).

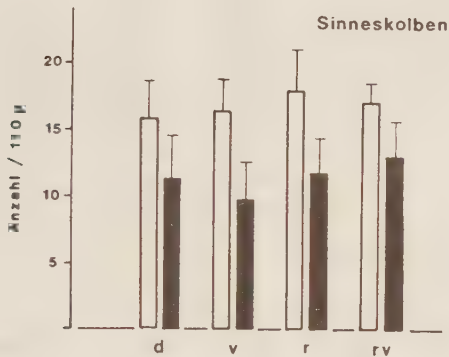


Abb.14: Quantitativer Seitenvergleich der olfaktorischen Sinneskolben bei einem 30 Tage alten unilateral deprivierten Kaninchen. Aufgetragen sind gemittelte Werte und Standardabweichungen von gegenüberliegenden Epithelstreifen des rechten und linken Septums. Die Zahl der Sinneskolben auf der verschlossenen Nasenseite (dunkle Säulen) ist an jeder Stelle des Epithels deutlich niedriger als auf der normalen Seite (offene Säulen), (vgl. auch Abb 10).

Dies erklärt sich nicht nur daraus, daß die prozentualen Differenzen geringer waren, sondern auch daraus, daß die Variabilität für die Zahl der Rezeptorzellkerne insgesamt größer war. An zwei Septumstellen waren auf der deprivierten Seite sogar mehr Zellkerne zu finden als auf der offenen Seite. Doch auch in diesen Fällen zeigte die zweite ausgewertete Epithelstelle deutliche Deprivationseffekte (Abb. 20). Bei einem deprivierten Tier wurde eine Überlebenszeit von 120 Tagen gewählt (Abb. 8). Die Ergebnisse der Zählungen bei diesem Tier unterschieden sich nicht grundsätzlich von denen der für 30 Tage deprivierten Tiere, allerdings war der auftretende Effekt etwas deutlicher. Die Differenz zwischen beiden Seiten bei den Sinneskolben betrug hier 34,9% und bei den Rezeptorzellkernen 17,8%.

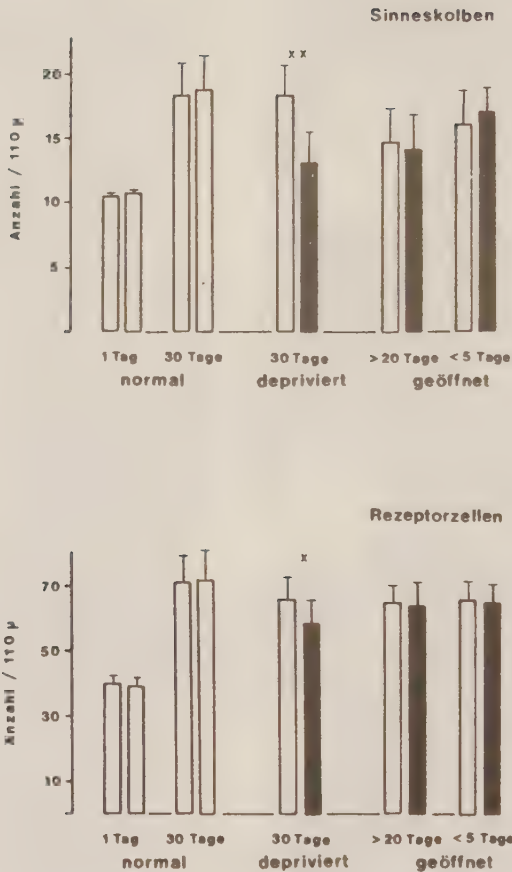


Abb.15: Quantitativer Seitenvergleich olfaktorischer Sinneskolben (oben) und Rezeptorzellen (unten) bei den verschiedenen Versuchsgruppen. Aufgetragen sind jeweils die gemittelten Werte von allen gleichbehandelten Tieren. Vom ersten bis zum 30. Lebenstag nahm die absolute Zahl der Sinneskolben zu. Ein permanenter Nasenverschluß führte im olfaktorischen Epithel der verschlossenen Seite (dunkle Säulen) zu einer signifikant (XX, t-Test, $p < 0,01$) geringeren Zahl olfaktorischer Sinneskolben. Bei Tieren mit permanent oder intermediär wiedergeöffnetem Nasenverschluß war am 30. Lebenstag kein Seitenunterschied mehr festzustellen. Ähnlich den Sinneskolben nimmt die Zahl der Rezeptorzellen vom ersten bis zum 30. Lebenstag zu und auch hier trat nur bei den Tieren mit dauerhaftem Nasenverschluß ein signifikanter (X, t-Test, $p < 0,05$) Unterschied zwischen offener und verschlossener Nasenseite auf.

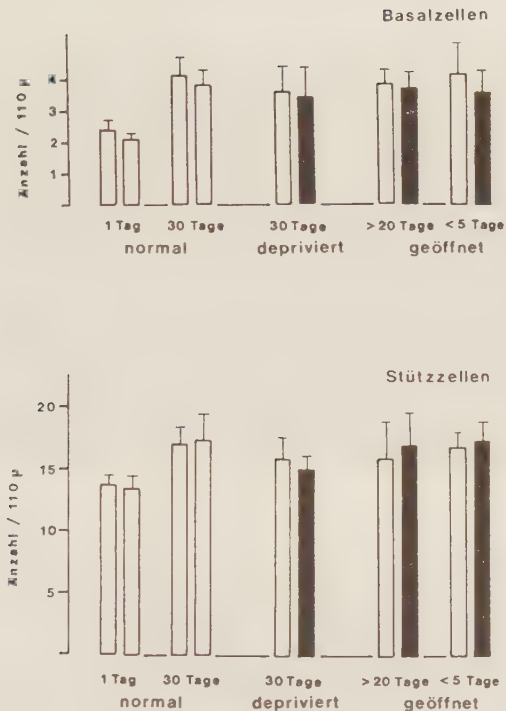


Abb.16: Quantitativer Seitenvergleich von Basalzellkernen (oben) und Stütz-
zellkernen (unten). Darstellung wie in Abb. 15. Die Zahl der Basal- und Stütz-
zellen wurden durch einseitigen Nasenverschluß nicht beeinflusst, obwohl vom ersten
bis zum 30. Lebenstag ebenfalls eine Zunahme stattfindet.

Für die Zahl der Basal- und Stützzenen ergaben sich keine nennenswerten Abwei-
chungen gegenüber der normalen Seite. Auch im Vergleich zu den normalen Tieren
waren hier keine Unterschiede zu finden (vergl. Abb. 16). Besonderes Augenmerk
wurde auf das Vorhandensein von Mitosen (Abb. 13) in der basalen Zellschicht gelegt,
deren Anzahl allerdings zu gering war, um eine Aussage machen zu können (19 Mitosen
auf der offenen und 14 auf der verschlossenen Seite von insgesamt 15 Septumstellen).

3.2.3.

Olfaktorisches Epithel

- elektronenmikroskopische Befunde

Die elektronenmikroskopischen Befunde basieren auf drei Fällen deprivierter Tiere und beziehen sich ausschließlich auf den olfaktorischen Saum. Dieser zeigte unabhängig davon, ob die Aufnahmen von der normalen oder deprivierten Seite stammten, unterschiedliche Erscheinungsformen, die vermutlich auf lokalen Fixationsunterschieden beruhten. Bei sechs Epithelseiten war das sogenannte "Deckhäutchen" erhalten, jedoch nur bei drei davon waren in allen Aufnahmen auch die Zilienendstücke vorhanden. Bei zwei Seiten fehlten Zilienendstücke und Deckhäutchen vollständig (Abb. 17). Diese Unterschiede waren allerdings keinesfalls spezifisch für die offene oder verschlossene Nasenseite zu finden.

Sinneskolben

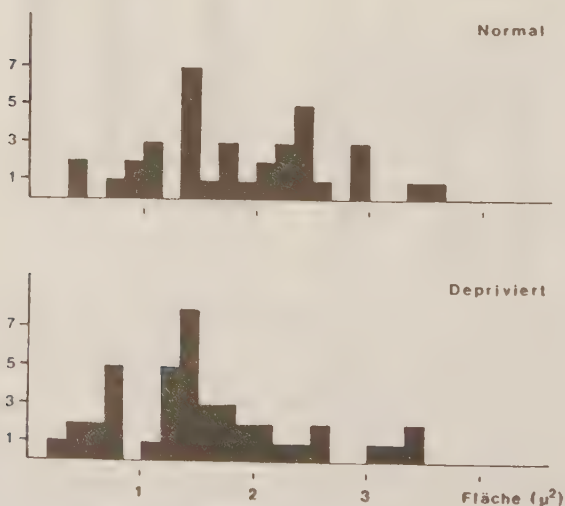


Abb.18: Verteilung der Größe angeschnittener Sinneskolben von zwei 30 Tage alten, unilateral deprivierten Tieren. Die morphometrische Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Sinneskolben der normalen und der deprivierten Epithelseite.



Abb.17: Erscheinungsformen des olfaktorischen Saums im elektronenmikroskopischen Bild. Oben Der Saum ist lumenseitig durch ein feines Deckhäutchen abgeschlossen und enthält zahlreiche Zilienendstücke. In der unteren Hälfte des Saums liegen die Sinneskolben und die Mikrozoiten der Stützzellen. Unten Der olfaktorische Saum hat kein Deckhäutchen und enthält nur wenige Zilienendstücke. Solche Unterschiede waren unabhängig davon, ob die deprivierte oder die normale Seite des olfaktorischen Epithels aufgenommen wurde. Möglicherweise beruhen sie auf lokalen Fixationsunterschieden. Vergrößerung: 10 000 fach.

Der morphometrische Vergleich von Sinneskolben der deprivierten und normalen Seiten bei zwei Fällen ergab keine signifikanten Unterschiede in der Zahl der Basalkörper, der Zilienabgänge oder der Mitochondrien pro Sinneskolbenanschnitt. Selbst die unterschiedlich großen Sinneskolben ließen keine Unterschiede zwischen deprivierter und normaler Seite erkennen. So hatten sie auf der deprivierten Seite eine mittlere Fläche von $1,63 \mu\text{m}^2$ und auf der normalen Seite von $1,86 \mu\text{m}^2$; jedoch überlappten die Standardabweichungen mit 0,9 bzw. $0,8 \mu\text{m}^2$ fast vollständig (Abb. 18).

3.2.4. Lymphoretikuläres Gewebe

Im ventralen Teil der Nasenhöhle am Übergang des Nasenseptums in den Nasenboden wurden ausgedehnte Einlagerungen von lymphoretikulärem Gewebe in der Nasenschleimhaut gefunden. Morphologisch handelte es sich um Beutmandeln, die vermutlich Teile der Tonsilla pharyngea und tubaria darstellen (Abb 7 und 19).

Bei zwei für 30 Tage deprivierten Tieren wurden diese lymphatischen Einrichtungen in Schnittserien untersucht. Schon die Betrachtung einzelner Schnitte bei geringer Vergrößerung zeigte deutlich den im Vergleich zur beatmeten Seite weitaus geringeren Umfang lymphoretikulären Gewebes in der Nasenhöhle der verschlossenen Seite (Abb. 19). Flächenmessungen der Tonsillenanschnitte in Schnittserien von $100 \mu\text{m}$ Abstand ergaben eine um etwa 42% geringere Ausbildung lymphatischen Gewebes auf der deprivierten Seite gegenüber der beatmeten Seite.



Abb.19: **Horizontalschnitt durch die Nasenhöhle im Bereich der Choane bei einem 30 Tage alten, deprivierten Kaninchen.** Tonsilla pharyngea (Tp) und Tonsilla tubaria (Tt) sind in der beatmeten (oben) und in der verschlossenen Nasenhöhle (unten) angeschnitten. Auch bei den Tonsillen führte der Nasenverschluß zu einer geringeren Entwicklung der deprivierten Seite. Paraffin-Schnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Balkenlänge = 1mm.

3.3. Öffnung des Nasenverschlusses

Um die Erholungsfähigkeit des Epithels nach einer Deprivation zu überprüfen, wurden dauerhafte und vorübergehende Wiederöffnungen des Nasenverschlusses bei insgesamt acht Tieren durchgeführt. In allen Fällen führte eine Wiederöffnung dazu, daß die oben beschriebenen morphometrischen Unterschiede zwischen offener und verschlossener Seite des olfaktorischen Epithels weitgehend verschwanden.

3.3.1. Permanente Wiederöffnung

Die permanente Öffnung des Nasenverschlusses ergab bei allen drei untersuchten Tieren unabhängig vom Zeitpunkt der Wiederöffnung (5. oder 10. Lebenstag) keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Epithelseiten am 30. Lebenstag. Die Zahl

der Sinneskolben war zwar auf der wieder geöffneten Seite im Mittel 4,1% niedriger als auf der permanent offenen Seite. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht abzusichern. Nur an einer einzigen Epithelstelle war die Differenz zwischen rechter und linker Seite eindeutig größer als die maximale Seitendifferenz bei normalen Epithelien (Abb. 20). Die absolute Zahl der Sinneskolben war allerdings in zwei Fällen (Tier Nr. 73 und 72, Tab. 1) auch auf der permanent offenen Seite niedriger als bei normalen Epithelien. Bei den Rezeptorzellkernen streuten die Einzelwerte stärker als bei normalen Epithelien 30 Tage alter Tiere, doch war auch hier die mittlere Anzahl auf der deprivierten Seite etwas niedriger (2,3%) als auf der Normalseite (Abb. 20). Die Zahl der Basal- und Stützzellen unterschied sich auf beiden Seiten nur unwesentlich und war auch von der bei Normaltieren gefundenen nicht zu unterscheiden (Abb. 16).

3.3.2. Temporäre Wiederöffnung

Gleichgültig, ob die verschlossene Nasenseite für 5 Tage (5.-10. Tag) oder nur für 24 Stunden (5.-6. Tag) geöffnet wurde, führte der anschließende Wiederverschluß überraschenderweise nicht zu einem weiteren Deprivationseffekt, so daß am 30. Tag keine deutlichen Seitenunterschiede zu erkennen waren (Abb. 15). Es zeigte sich sogar eine leichte Erhöhung einzelner Zählwerte. Im Mittel war die Zahl der Sinneskolben auf der vorübergehend offenen Seite um 5,9% gegenüber der permanent offenen Epithelseite erhöht. Doch war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Von insgesamt 10 ausgewerteten Stellen war die Zahl der Sinneskolben an vier Stellen erhöht, an einer sogar um mehr als 30%, an fünf Stellen lag die Anzahl der Sinneskolben im Bereich normaler Tiere und nur an einer Stelle war die Zahl der Sinneskolben der geöffneten Seite etwas erniedrigt (Abb. 20).

Auch die Zahl der Rezeptorzellen beider Epithelseiten wies im Mittel keine Unterschiede auf. Ihre Gesamtzahl war zwar gegenüber der normaler Tiere geringfügig erniedrigt (Abb. 15) doch war hier, wie bei den Sinneskolben, die Variation zwischen den einzelnen Stellen deutlich größer als bei den normalen Tieren (Abb. 20). Die Zahl der Basal- und Stützzellkerne unterschied sich nicht von der normaler Tiere (Abb. 16).

Um festzustellen, ob Geruchsreize von retropharyngeal über die Choane zur verschlossenen Nasenseite gelangen können, wurde bei zwei Tieren gleichzeitig mit dem Nasenverschluß eine kontralaterale Bulbektomie vorgenommen, so daß Geruchswahrnehmung potentiell nur vom Epithel der verschlossenen Seite vermittelt werden konnte. Ein weiteres unilateral bulbektomiertes Tier ohne Nasenverschluß und eines mit nur einseitigem Nasenverschluß, d.h. mit intaktem kontralateralen Bulbus, dienten als Kontrolle. Diese beiden Tiere waren in der Testsituation (vgl. Methoden) in der Lage, Zitzen bei einer pheromonproduzierenden Häsin zu finden. Sie reagierten auf ein pheromonloses Kaninchen jedoch nicht. Das heißt, daß eine Nasen- bzw. Epithelseite genügt, um Geruchsreize - hier das Zitzensuchpheromon - wahrzunehmen. Die beiden Tiere mit linksseitigem Nasenverschluß und gleichzeitiger Bulbektomie auf der rechten Seite waren dazu nicht in der Lage. Sie zeigten keinerlei Suchverhalten und waren nicht fähig, eine Zitze zu finden bzw. zu besaugen. Durch Gewichtskontrollen vor und nach dem Säugen des gesamten Wurfes unter normalen Bedingungen konnte ebenfalls festgestellt werden, daß die beiden Tiere mit einseitigem Nasenverschluß und kontralateraler Bulbektomie nicht in der Lage waren, Milch aufzunehmen.

Um zu überprüfen, ob nach vorübergehendem Nasenverschluß das Epithel der verschlossenen Seite noch funktionstüchtig ist, wurde bei vier Tieren am 10. Lebenstag gleichzeitig mit der Eröffnung des Nasenlochs das der anderen Seite verschlossen. Zwei dieser Tiere zeigten im Verhaltenstest (s.o.) bereits drei Stunden nach der Wiederöffnung ein normales Suchverhalten. Die beiden anderen taten dies nach einer Erholungszeit von 24 Stunden. Alle vier Tiere waren dann auch im Nest beim Säugen des Wurfes in der Lage, auf das Zitzensuchpheromon zu reagieren, d.h. Zitzen zu finden und Milch aufzunehmen.

In der vorliegenden Arbeit sollte durch einen unilateralen Nasenverschluß untersucht werden, ob bzw. in welchem Ausmaß exogene Faktoren für die postnatale Entwicklung des olfaktorischen Epithels von Bedeutung sind.

Das Verschließen der Nasenöffnung birgt methodische Schwierigkeiten, da aufgrund der starken Nasenflügelbewegungen der Kaninchen eine Wiederöffnung des operativen Verschlusses vorkommt (Frühwald, 1935). Eine bei neugeborenen Ratten und Mäusen gebräuchliche Methode ist die Kauterisation der äußeren Nasenhöhle, die zu einem membranartigen Verschuß führt (Benson et al., 1984; Brunjes, 1985; Meisami, 1978). Doch scheint dieses Verfahren zu einer relativ hohen Anzahl von unzureichenden Nasenverschlüssen zu führen (Meisami, 1976). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit ein chirurgischer Verschuß der Nasenöffnung vorgenommen (Gudden, 1870), der in Zusammenhang mit der beschriebenen U-Naht einen sicheren Nasenverschluß gewährleistet (vgl. Methoden). Die funktionelle Wirksamkeit dieses Verschlusses konnte durch Verhaltensexperimente (vgl. Kap. 2.5.) eindeutig nachgewiesen werden.

Bisher wurden zwar verschiedene Untersuchungen über die Auswirkungen des permanenten einseitigen Nasenverschlusses durchgeführt (Meisami, 1976, 1978; Brunjes, 1985; Brunjes und Borrer, 1983; Benson et al., 1984). Experimente in Bezug auf die morphologische Rekonstitution und funktionelle Kapazität des deprivierten olfaktorischen Systems, die eine Reversibilität des Nasenverschlusses voraussetzen, wurden bisher nicht beschrieben, obgleich deren Bedeutung für die Untersuchung sensitiver Phasen in der Entwicklung des olfaktorischen Systems durchaus erkannt ist (Brunjes und Frazier, 1986). Die in dieser Arbeit beschriebene Methode des vorübergehenden Nasenverschlusses hat zum erstenmal solche Untersuchungen möglich gemacht.

Eine weitere grundsätzliche methodische Schwierigkeit liegt in der extremen Empfindlichkeit des olfaktorischen Epithels begründet (Kolmer, 1927; Seifert, 1970). Die Fixierung führt zum Teil in der basalen Zellschicht des Epithels zu starker Lockerung bzw. zu Schrumpfung des Gewebes. Die unterschiedlichen Erscheinungsformen des

olfaktorischen Saums auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen (vgl. Abb. 17) beruhen möglicherweise auch auf solchen lokalen Fixationsunterschieden (Seifert, 1970). Die Vielfalt der in der Literatur beschriebenen Rezepte beweist, daß gegenwärtig noch keine sichere Methode für die Konservierung des Riechepithels verfügbar ist. Für die vorliegende Arbeit wurden verschiedene Methoden angewendet, von denen letztendlich die beschriebene (vgl. Kap. 2.3.) die qualitativ besten Ergebnisse erbrachte. Da bei der Auswertung keine Unterscheidung zwischen "reifen" und "unreifen" Rezeptorzellen vorgenommen werden mußte - dies ergab sich indirekt aus der Zahl der Sinneskolben - konnten auch die Ergebnisse vergleichsweise schlechter Fixationen gewertet werden.

Die in dieser Arbeit gefundene große Variabilität der Anschnittflächen von Sinneskolben kommt möglicherweise durch unterschiedliche Schnittebenen zustande. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, wurden in der vorliegenden Arbeit nur Sinneskolben in die Auswertung mit einbezogen, deren Dendriten bis tief in die Stützzellschicht reichen; damit waren nur zentrale Schnittebenen erfaßt. Möglicherweise stellen diese unterschiedlich großen Sinneskolben unterschiedliche Entwicklungsstufen oder Alterserscheinungen dar. Wahrscheinlicher ist die Erklärung, daß tatsächlich Sinneskolben unterschiedlicher Größe regelmäßig im olfaktorischen Epithel vorkommen, wie dies Andres (1969) beschrieben hat.

Bezüglich der Befunde aus der ultrastrukturellen Untersuchung der olfaktorischen Sinneskolben muß gesagt werden, daß sicherlich noch zu wenig Material untersucht wurde, um eine endgültige Aussage über morphologische Veränderungen zu machen. Zumindest aber ist aus diesen Untersuchungen deutlich geworden, daß keine offensichtlichen Veränderungen der Sinneskolben vorliegen. In einer weiterführenden Untersuchung müßte im Besonderen auf die Verteilung von reifen (elektronendicht, zilienbesetzt) und unreifen (hell, noch ohne Zilien) Sinneskolben geachtet werden, wie sie bei der Maus während der ersten Lebensmonate beschrieben wurden (Hinds und McNelly, 1981). Dabei sollte besondere Beachtung auf die Entwicklung der Zilien der Sinneskolben gelegt werden, da aus rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen an Hunden, deren Nasenatmung durch Laryngektomie unterbunden war, bekannt ist, daß hier das Zilienwachstum regenerierender Rezeptorzellen verlangsamt abläuft (Lee et al., 1987).

Der quantitative Vergleich der beiden Epithelseiten wurde - wie in vergleichbaren Arbeiten (Benson et al., 1984; Farbman et al. 1985; Hinds et al., 1984; Hinds und McNelly, 1981) - auf das olfaktorische Epithel des Nasenseptums beschränkt, da es aufgrund der vielfachen Faltung der Riechepithelfläche auf den Nasenmuscheln nicht möglich ist, korrespondierende Epithelstellen zu bestimmen. Darüber hinaus zeigt das Nasenseptum in normalen Tieren bezüglich der beiden Epithelseiten große Zellzahlkonstanz (vgl. Abb. 10, 20); damit war es möglich, bei Tieren mit einseitigem Nasenverschluß auftrretende Effekte bereits aus einem einzigen ausgewerteten Schnitt deutlich zu erkennen (vgl. Abb. 14, 20). Diese Tatsache macht das Nasenseptum zur Stelle der Wahl, um quantitative Seitenvergleiche anzustellen.

4.2. Einordnung der Ergebnisse

Die Befunde, die in dieser Arbeit am Bulbus olfactorius deprivierter Tiere erhoben wurden, bestätigen die Ergebnisse bekannter Arbeiten. So beschrieb beispielsweise Gudden schon 1870, daß bei Kaninchen der Bulbus olfactorius der verschlossenen Nasenseite im Wachstum zurückbleibt. Frühwald (1935) fand beim Kaninchen denselben Effekt, und in neuerer Zeit wurden vergleichbare Befunde auch an Mäusen und Ratten erhoben (Benson et al., 1984; Brunjes, 1985, 1988; Brunjes und Borror, 1983; Meisami, 1976, 1978).

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß im olfaktorischen Epithel von Kaninchen postnatal nicht nur ein erhebliches Flächenwachstum stattfindet, sondern auch die Zahl der Rezeptorzellen pro Flächeneinheit erheblich zunimmt. Nach Meisami et al. (1986) bezieht sich diese Entwicklung nicht nur auf das Septumepithel, sondern auch auf das Epithel der Nasenmuscheln. Bei Kaninchen verdreifacht sich die Epithelfläche während des ersten Lebensmonats und die absolute Zahl der Rezeptorzellen nimmt um das Fünffache zu (Meisami et al, 1986). Bei der Ratte wächst die Epithelfläche bis zum 29. Lebensmonat, und die Zahl der Rezeptorzellen pro Flächeneinheit nimmt bis zum 18. Lebensmonat zu (Hinds und McNelly, 1981). Auch beim Frettchen erhöht sich die Zahl der Rezeptorzellen pro Flächeneinheit nach der Geburt noch erheblich (Rehn et al. 1986). Im Gegensatz dazu scheint dies bei der Maus nicht im gleichen Maße der Fall zu sein (Hinds et al., 1984).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß die lokale Zunahme reifer Rezeptorzellen während des 1. Lebensmonats durch einen postnatalen einseitigen Nasenverschluß stark eingeschränkt wird. Die Zahl der Sinneskolben war nach 30 Tagen Deprivation um durchschnittlich 25.4 % geringer als auf der beatmeten Seite (Abb. 14, 15) und die Zahl der Rezeptorzellkerne war um 11% geringer (Abb. 15).

Diese Befunde am deprivierten olfaktorischen Epithel unterscheiden sich von Ergebnissen aus Untersuchungen an anderen Tierarten. So fanden Benson et al. (1984) bei Mäusen keine deprivationsbedingten Veränderungen des olfaktorischen Epithels. Sie stellten Vergleiche in Bezug auf die Dicke des Epithels, seine Flächenausdehnung und die Zahl der Sinneskolben an und fanden bei allen drei gemessenen Parametern im Gegensatz zu den hier beschriebenen, an Kaninchen gewonnenen Ergebnisse keine Unterschiede zwischen normaler und deprivierter Epithelseite. Möglicherweise erklären sich diese unterschiedlichen Befunde aus der Tatsache, daß bei der Maus postnatal kein bedeutendes Epitheldickenwachstum mehr stattfindet (Hinds et al., 1984). Auf der anderen Seite beschreibt Benson et al. (1984) jedoch, daß die Schicht der olfaktorischen Nerven des Bulbus olfactorius, die in der Hauptsache aus den Axonendigungen der Rezeptorzellen besteht, bei Tieren mit einseitigem Nasenverschluß auf der deprivierten Seite deutlich dünner war als auf der normalen Seite. Geht man davon aus, daß diese geringere Schichtdicke auf eine verminderte Anzahl von Axonendigungen zurückzuführen ist, verwundert es, daß im olfaktorischen Epithel keine deprivationsbedingten Effekte gefunden wurden. Eine mögliche Ursache für das Fehlen dieser Effekte am Epithel in dieser Studie an Mäusen (Benson et al. 1984) könnte auch sein, daß in dieser Untersuchung der Nasenverschluß teilweise nicht unmittelbar am Tag nach der Geburt vorgenommen wurde und in meiner Arbeit deutlich wurde, daß schon sehr kurze "Stimulationszeiten" ausreichen können, um einen Deprivationseffekt am olfaktorischen Epithel zu verhindern.

Farbman et al. (1985) dagegen fanden bei Ratten mit unilateralem Nasenverschluß im olfaktorischen Epithel der verschlossenen Seite eine um 18% geringere Zellzahl. Da die Zahl der Stützzellen unverändert war und auch immunhistochemische Färbungen zur Darstellung des nur in reifen Sinneszellen vorkommenden sog. OMP (olfaktorisches "Marker"-Protein) (Margolis, 1985) keine Unterschiede zwischen normaler und deprivierter Seite erbrachte, zogen sie daraus die Schlußfolgerung, daß das olfaktorische Epithel auf der deprivierten Seite weniger unreife Rezeptorzellen

enthält. Die in der vorliegenden Arbeit durch die Auszählung der Sinneskolben gewonnenen Daten zeigen, daß bei Kaninchen die Zahl der reifen Rezeptorzellen auf der deprivierten Seite deutlich geringer ist.

Diese unterschiedlichen Befunde ergeben sich möglicherweise ebenfalls daraus, daß sie an unterschiedlichen Tierarten erhoben wurden. Beispielsweise fand man schon bei verschiedenen Mäusespezies, die zum Zeitpunkt der Geburt unterschiedlich weit entwickelt sind, verschieden starke Deprivationseffekte: bei nesthockenden Mäusen findet man nach 30 Tagen Nasenverschluß eine um 26% reduzierte Bulbusentwicklung auf der deprivierten Seite und keinen Effekt im olfaktorischen Epithel (Benson et al. 1984); Brunjes hingegen findet bei der nestflüchtenden Stachelmaus eine um 41% reduzierte Bulbusentwicklung und eine um 6,5% reduzierte Entwicklung olfaktorischer Rezeptorzellen im Riechepithel (Brunjes, 1988).

4.3. Interpretation und Hypothesen

Die Zunahme der Zahl der Sinneskolben vom neugeborenen zum 30 Tage alten Tier beträgt auf der deprivierten Seite nur 18,9% gegenüber einer Zunahme um 59,5% auf der intakten Seite. Die Zahl der Rezeptorzellkerne dagegen nahm auf der deprivierten Seite um 49,1% zu und auf der normalen Seite um 79,3%. Das deutet darauf hin, daß bei unilateral deprivierten Tieren die Neurogenese im Riechepithel reduziert ist, daß aber der Ausreifungsprozess von der Progenitorzelle zur sinneskolbentragenden, reifen Rezeptorzelle dabei stärker negativ beeinflusst wird. Das wiederum bedeutet, äußere Einflüsse veranlassen die postmitotische Progenitorzelle zur Rezeptorzelle auszureifen.

Überraschenderweise ist dieser "Deprivationseffekt" reversibel, wenn die Nasenhöhle dauerhaft oder kurzzeitig (24 Std., vom 5. bis 6. Tag) durch Öffnung des Verschlusses wieder für Atemluft passierbar ist. Dieser kurze Zeitraum ist ausreichend, um die Mitoserate und die Ausdifferenzierung der Progenitorzellen zu reifen Rezeptorzellen anzuregen und diesen Prozess auch nach einem erneuten Verschluß der Nasenöffnung aufrechtzuerhalten. Dies scheint nicht bei allen untersuchten Tieren und nicht an allen Stellen in gleicher Weise stattzufinden, da die Variabilität in diesen Fällen sehr viel größer war als in normalen oder für 30 Tage dauerhaft deprivierten Tieren (Abb. 20).

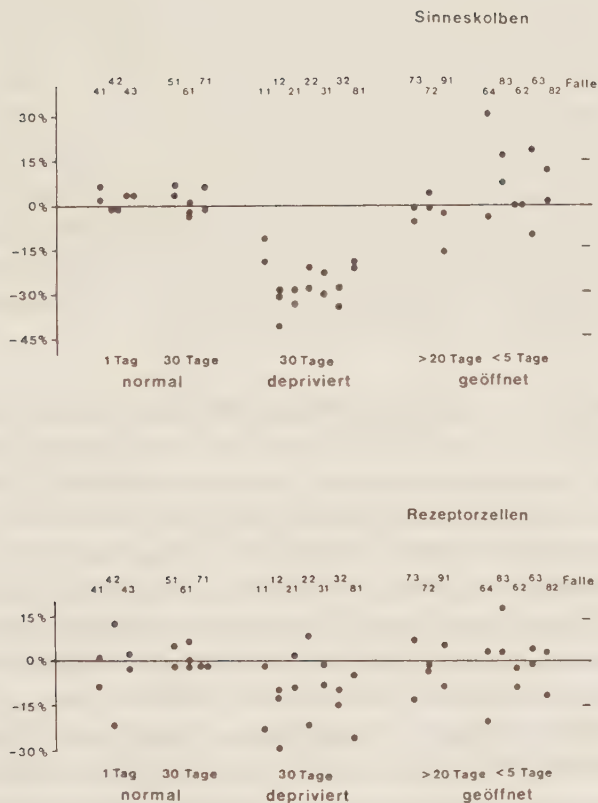


Abb. 20: Prozentuale Seitendifferenz der Sinneskolben (oben) und Rezeptorzellen (unten) bei den verschiedenen Versuchsbedingungen. Jeder Punkt der Abb. entspricht dem Seitenunterschied der Epithelstichproben an einer Septumstelle; die entsprechende Fallnummer (vgl. Tab. 1-8, Anhang) ist jeweils darüber angegeben. Während normale Tiere keine deutlichen Seitenunterschiede aufwiesen, war dies bei den für 30 Tage unilateral deprivierten Tieren der Fall. Die Gruppe der Tiere mit wiedergeöffnetem Nasenverschluß zeigte dagegen keine deutlichen Seitenunterschiede. Bei einer vorübergehenden Wiederöffnung kam es sogar zu einem gewissen Überschußwachstum von Sinneskolben auf dieser Seite.

Eine mögliche Erklärung wäre, daß die Art der Stimulation während dieser Öffnungszeit von Bedeutung ist und nicht in allen Fällen identisch war; andererseits wäre es aber auch möglich, daß nicht alle Stellen des Epithels in gleicher Weise zum Wachstum angeregt werden. Das wiederum kann als Indiz gewertet werden, daß im olfaktorischen Epithel unterschiedliche Populationen von Rezeptorzellen vorhanden sind, die auf die selbe Stimulation in unterschiedlicher Weise reagieren. Solche unterschiedlichen Zellpopulationen könnten Zellklone darstellen, die alle von derselben Mutterzelle abstammen (Alberts et al. 1986) und damit die gleichen Rezeptoren tragen (Shepherd, 1985). Ein Hinweis auf das Vorhandensein solcher Einheiten ist, daß sich immer die Mehrzahl aller Axone eines olfaktorischen Nervenbündels im selben "Turnover"-Stadium befinden (Hafner, 1987). Eine genauere Untersuchung dieses Effekts, bei der die "Stimulation" des Epithels unter kontrollierten Atemluft-Bedingungen stattfinden müßte, könnte zur Klärung dieser Frage beitragen.

Die Frage, welche Mechanismen für diese Entwicklungsstimulation verantwortlich sind, kann gegenwärtig nicht beantwortet werden. Es ist jedoch in der vorliegenden Untersuchung deutlich geworden, daß neben olfaktorischer Stimulation auch nicht sensorische Einflüsse von Bedeutung sein können. Der Effekt am lymphoretikulären Gewebe der Nasenhöhle (vgl. Kap. 3.2.4.) zeigt, daß neben dem Riechepithel auch andere Gewebe betroffen sind. Bezüglich des respiratorischen Epithels der Nasenhöhle ist bereits bekannt, daß ein einseitiger Nasenverschluß zu Veränderungen dieses Epithels und seiner Zelldichte führt. So fand man bei Kaninchen, deren Nasenöffnung einseitig verschlossen worden waren, eine dünnere "Nasenschleimhaut" und eine geringere quantitative Entwicklung ihrer Drüsen sowie geringere Ausbildung lymphatischen Gewebes sowie ein zarter strukturiertes Knochengewebe auf der verschlossenen Seite (Frühwald, 1935). Auch die Zahl der Becherzellen des respiratorischen Epithels nimmt bei adulten Kaninchen nach einseitigem Nasenverschluß auf dieser Seite ab und auf der beatmeten, d.h. stärker ventilierten Seite findet man eine Zunahme dieser Zellen (Mogensen und Tos, 1978; Tos und Mogensen, 1979). Es ist damit vorstellbar, daß ein durch den Nasenverschluß bedingter Verlust an äußeren Einflüssen für die reduzierte Ausbildung reifer Rezeptorzellen des Riechepithels verantwortlich ist, d.h. eine Blockade äußerer Insulte, die durch Schädigung reifer Zellen den Umsatz und die Neurogenese im Riechepithel beeinflussen könnten.

Ähnliche Mechanismen werden auch für die Regulation des Rezeptorzellumsatzes im Riechepithel adulter Tiere vermutet. Zwar fanden Graziadei und Monti Graziadei (1979) 30 Tage nach Injektion von radioaktiv markiertem Thymidin keine markierten Rezeptorzellen mehr im Riechepithel. Daraus zogen sie die Schlußfolgerung, daß die Lebensdauer dieser Zellen genetisch determiniert ist und maximal 30 Tage beträgt. Andere Untersuchungen zeigen aber, daß unter kontrollierten Umweltbedingungen noch nach über 90 Tagen markierte Zellen vorhanden sind (Moulton et al., 1970; Hinds et al., 1984). Diese Befunde begründen die Hypothese, daß in Abwesenheit von schädlichen Einflüssen reife Rezeptorzellen wesentlich langlebiger sein können. Die dann aus der Mitose der Basalzellen resultierenden "überzähligen" Vorläuferzellen, die aufgrund besetzter Synapsen nicht in der Lage sind, neue Verbindungen mit dem Bulbus olfactorius herzustellen, würden zugrunde gehen (Breipohl et al., 1986; Hinds et al., 1984).

Wenn man davon ausgeht, daß alle olfaktorischen Rezeptorzellen, die einen Sinneskolben tragen, auch eine Verbindung mit dem Bulbus olfactorius haben, können die vom Bulbus bekannten Deprivationsbefunde (Benson et al. 1984; Brunjes, 1985; Brunjes und Borror, 1983; Meisami, 1976, 1978) nicht länger durch eine ausschließlich sensorische Deprivation erklärt werden. Die Tatsache, daß neu ins Gehirn einwachsende Axone olfaktorischer Rezeptorzellen in der Lage sind, ihr Zielgebiet morphologisch zu verändern (Graziadei und Monti Graziadei, 1983, 1985) deutet darauf hin, daß das Wachstum des Bulbus olfactorius während der postnatalen Entwicklung durch die laufend neu einwachsenden Axone gefördert wird. Auch während der Embryonalentwicklung beginnt sich der Bulbus olfactorius erst dann zu entwickeln, wenn die ersten Axone olfaktorischer Rezeptorzellen in diesen Bereich des späteren Telencephalons gelangen (Hinds, 1972a, b). In einer experimentellen Arbeit wurde gezeigt, daß der Bulbus sich nicht entwickelt, wenn keine olfaktorischen Nerven während der Embryogenese ins Zentralnervensystem gelangen (Giroud et al., 1965). Auch bei adulten Tieren kommt es nach chronischer Rhinitis (Ratte: Smith, 1935, 1937) oder durch experimentelle Läsionen des Riechepithels (Kaninchen: Berger, 1973; Mathews und Powell, 1962; Pinching und Powell, 1971; Powell, 1967) zu Mitralzelldegenerationen und einer Atrophie des Bulbus olfactorius. Diese Befunde deuten darauf hin, daß einerseits die Zunahme von Rezeptorzellen das Wachstum des Bulbus olfactorius stimuliert, andererseits limitiert die Größe des Bulbus olfactorius die Anzahl der synaptisch verbundenen Rezeptorzellen (Hinds et al., 1984).

Wie mit dieser Arbeit gezeigt werden konnte, stellt der einseitige Nasenverschluß an Kaninchen ein gutes Modell dar, um die Auswirkungen äußerer Einflüsse auf die Neurogenese und Ausdifferenzierung der Rezeptorzellen des Riechepithels zu untersuchen. Dieses Modell sollte auch genutzt werden, um die Mechanismen des Rezeptorzellumsatzes in adulten Tieren zu untersuchen.

In allen Experimenten zur Untersuchung des Riechepithels muß der Tatsache Rechnung getragen werden, daß die Nase im Gegensatz zu anderen Sinnesorganen eine Doppelfunktion erfüllt; sie dient nicht nur der Geruchswahrnehmung, sondern vor allem als Teil des Atmungsorgans. Damit können nicht nur Geruchsstoffe Einfluß auf die Entwicklung und Differenzierung des Epithels ausüben, sondern auch alle anderen in der Atemluft enthaltenen Faktoren. Aus diesem Grund ist bis heute noch offen, ob die Entwicklung des olfaktorischen Epithels den aus anderen Sinnesorganen bekannten Prinzipien entspricht oder ob hier vielleicht bisher unbekannte biologische Mechanismen vorliegen.

1.) Aufstellung der für die Fixation und histologische Präparation verwendeten Lösungen:

1.) Vorspüllösung für Perfusionsfixation:

Lösung I: Veronal-Na ($M_g = 206,18$) $0,143m = 2,943 \text{ g}/100 \text{ ml}$
und Na-Acetat ($M_g = 136,09$) $0,143m = 1,943 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

Michaelispuffer: pH 7,8

200 ml Lösung I

120 ml n/10 HCl

680 ml aqua dest.

darin gelöst:

9,0 g NaCl, 0,3 g KCl, 0,2 g CaCl_2 , 0,05g MgCl_2 ,

60 g Dextran (anschließend filtrieren).

2.) Phosphatpuffer (nach Sörensen):

Lösung I: $0,1 \text{ m KH}_2\text{PO}_4$ ($M_g = 136,09$)

Lösung II: $0,1 \text{ m Na}_2\text{HPO}_4$ ($M_g = 178,00$)

Lsg. I und Lsg. II je nach gewünschtem pH miteinander mischen.

3.) Fixationslösung (Glutaraldehyd in Phosphatpuffer 1000 ml):

140 ml 25 %iges Glutaraldehyd

860 ml Phosphatpuffer (pH 7,4)

4.) Gepufferte Spüllösung (0.22 m Saccharose-Phosphatpufferlösung):

7.52 g Saccharose in 100 ml Phosphatpuffer (0.1 m)
lösen.

5.) Nachfixierung (1 %ige Osmiumtetroxidlösung):

5 ml 2 %iges OsO_4 in aqua dest. gelöst

2 ml Veronalacetat-Puffer (s.o.)

2 ml 0.1 n HCl

0.45 g Saccharose

6.) Schnelfärbung mit Methylenblau-Azur II (Richardson, 1960):

Gemisch aus gleichen Teilen 1 %igem Azur II in aqua dest. und 1 %igem Methylenblau in 1 %igem Borax (anschließend filtrieren).

7.) Pikrinsäure-Formol-Eisessig (nach Bouin):

Gesättigte wässrige Pikrinsäure: 75 ml

Formalin : 25 ml

Eisessig: 5 ml

II.) Tabellarische Zusammenstellung der Daten von allen Tieren (vgl. Abb. 8) an deren Epithel Zählungen durchgeführt wurde: drei neugeborene normale Tiere (Fall 41, 42, 43), drei 30 Tage alte normale Tiere (Fall 51, 61, 71), sieben 30 Tage alte Tiere mit einseitigem Nasenverschluß (Fall 11, 12, 21, 22, 31, 32, 81), drei Tiere mit vorübergehendem Nasenverschluß (Fall 72, 73, 91) und fünf Tiere bei denen der Nasenverschluß zwischenzeitlich geöffnet wurde (Fall 62, 63, 64, 82, 83). Eingetragen sind jeweils die gemittelten Werte aus je 10 Zählfeldern (Abb. 9) von beiden Seiten des Nasenseptums ("normal", "depriviert") und von verschiedenen Probestellen (d, v, r, vgl. Abb. 7). Gezählt wurden die Sinneskolben (Tab. 1, 2), die Kerne von Rezeptorzellen (Tab. 3, 4), Stützzellen (Tab. 5, 6) und Basalzellen (Tab. 7, 8).

NORMAL				DEPRIVIERT				GEOFFNET					
Tag		Epithel		Tag		Epithel		Tag		Epithel			
Tier		d	v	r	Tier	d	v	r	Tier	d	v	r	
1.				30.				11.					
41		11,0	10,6		11	17,7	17,4		73		16,2	11,2	
42		12,0	10,6		12	15,7	16,3	16,9	6.				
43		10,8	10,8		21		18,8	18,6	72	13,1		11,9	
30.					22	20,6	19,6		91		18,3	17,6	
51			19,9	18,3	31		15,6	12,9	6.-11.				
61		14,1	16,4	13,9	32	20,5		17,4	64	16,8		11,8	
71		19,0	20,8		81		17,3	22,0	83	16,2	15,9		
								6.-7.					
								62				18,7	15,6
								63				20,8	11,7
								82				16,5	15,8

Tabelle 1: Sinneskolben, "normale" Seite

Tabelle 1: Sinneskolben, "normale" Seite

NORMAL					DEPRIVIERT					GEOFFNET				
Tag		Epithel			Tag		Epithel			Tag		Epithel		
Tier		d	v	r	Tier		d	v	r	Tier		d	v	r
1.					30.					11.				
41		11,2	11,3		11		15,9	14,1		73			16,1	10,6
42		11,9	10,5		12		11,2	9,7	11,7	6.				
43		11,2	11,2		21			13,4	12,5	72		13,6		11,8
30.					22		14,8	15,6		91			17,7	14,9
51			20,6	19,6	31			11,9	9,0	6.-11.				
61		13,6	16,6	13,6	32		14,8		11,5	64		16,0		15,5
71		20,2	20,6		81			13,9	17,8	83		17,5	18,6	
										6.-7.				
										62			18,7	15,7
										63			18,7	14,0
										82		18,6	16,0	

Tabelle 2: Sinneskolben, "deprivierte" Seite

Tabelle 2: Sinneskolben, "deprivierte" Seite

NORMAL				DEPRIVIERT				GEOFFNET				
Tag		Epithel		Tag		Epithel		Tag		Epithel		
Tier		d	v	r	Tier	d	v	r	Tier	d	v	r
1.				30.				11.				
41		40,4	41,9		11	69,9	60,0		73		66,8	64,4
42		42,4	38,6		12	82,6	67,3	69,9	6.			
43		42,0	35,2		21		58,3	58,4	72	65,8		68,6
30.					22	60,0	61,4		91		70,5	63,9
51			84,5	76,7	31		67,3	62,4	6.-11.			
61		69,6	64,1	62,5	32	72,9		72,6	64	75,0		72,0
71		74,3	63,8		81		58,7	70,3	83	56,4	63,1	
								6.-7.				
									62		66,9	71,3
									63		62,0	66,3
									82	60,4	62,1	

Tabelle 3: Rezeptorzellen, "normale" Seite

Tabelle 3: Rezeptorzellen, "normale" Seite

NORMAL					DEPRIVIERT					GEOFFNET				
Tag		Epithel			Tag		Epithel			Tag		Epithel		
Tier		d	v	r	Tier		d	v	r	Tier		d	v	r
1.					30.					11.				
41		40,9	38,4		11		68,6	46,4		73		58,4	69,1	
42		36,6	43,8		12		58,5	59,6	61,3	74	6.			
43		41,0	36,2		21			59,3	52,8	72		55,2		66,3
30.					22		64,9	48,5		91			74,5	58,5
51			88,5	75,8	31			66,5	57,9	6.-11.				
61		70,3	68,5	62,4	32		65,3		61,6	64		59,8		77,4
71		37,2	62,8		81			43,4	67,0	83		66,3	65,1	
										6.-7.				
										62			60,4	69,4
										63			64,5	65,8
										82		62,2	55,0	

Tabelle 4: Rezeptorzellen, "deprivierte" Seite

Tabelle 4: Rezeptorzellen, "deprivierte" Seite

NORMAL					DEPRIVIERT					GEOFFNET				
Tag		Epithel			Tag		Epithel			Tag		Epithel		
Tier		d	v	r	Tier		d	v	r	Tier		d	v	r
1.					30.					11.				
41		14,1	13,7		11		17,6	15,1		73		18,3	21,0	
42		12,7	14,2		12		18,7	16,2	16,6	6.				
43		13,3	12,9		21			17,7	14,5	72		15,1		17,7
30.					22		17,3	16,3		91			13,6	13,5
51			15,5	16,5	31			14,9	17,4	6.-11.				
61		15,1	16,1	17,1	32		15,6		16,0	64		18,1		17,4
71		15,9	17,3		81			15,3	18,4	63		17,1	15,6	
										6.-7.				
										62				
										16,2				
										18,4				
										17,4				

Tabelle 5: Stutzzellen, "normale" Seite

NORMAL				DEPRIVIERT				GEÖFFNET					
Tag		Epithel		Tag		Epithel		Tag		Epithel			
Tier		d	v	r	Tier	d	v	r	Tier	d	v	r	
1.				30.				11.					
41		2,3	3,0		11	2,4	3,6		73		3,6	4,2	
42		2,1	2,1		12	3,6	3,7	3,7	6.				
43		2,2	2,3		21		3,5	3,9	72	4,2		3,6	
30.				22				4,4	4,3	91		2,7	4,3
51			3,2	3,8	31		1,9	3,4	6.-11.				
61		4,0	4,3	5,1	32	2,9		3,9	64	4,1		3,9	
71		4,5	4,3		81		3,7	5,1	83	5,4	4,3		
								6.-7.					
								62				3,2	4,4
								63				2,3	3,3
								82				5,6	5,0

Tabelle 7: Basalzellen, "normale" Seite

Tabelle 7: Basalzellen, "normale" Seite

NORMAL				DEPRIVIERT				GEÖFFNET				
Tag		Epithel		Tag		Epithel		Tag		Epithel		
Tier		d	v	r	Tier	d	v	r	Tier	d	v	r
	1.					30.				11.		
41		2,1	2,0		11	3,4	3,0		73		3,5	3,7
42		2,3	2,4		12	3,7	4,2	4,5	6.			
43		1,8	2,0		21		2,4	2,0	72	4,5		4,5
	30.				22	3,6	4,3		91		3,0	3,2
51			4,1	3,6	31		3,1	2,4	6.-11.			
61		2,8	3,8	4,1	32	3,6		2,0	64	3,3		2,9
71		4,0	3,9		81		4,4	5,3	83	4,9	2,8	
									6.-7.			
									62		3,0	3,7
									63		4,2	2,8
									82	4,2	4,1	

Tabelle 8: Basalzellen, "deprivierte" Seite

Tabelle 8: Basalzellen, "deprivierte" Seite

AUSWIRKUNGEN DES EINSEITIGEN NASENVERSCHLUSSES AUF DIE ENTWICKLUNG DES OLFAKTORISCHEN EPITHEL BEIM KANINCHEN

Verglichen mit Ergebnissen aus Untersuchungen am visuellen, auditorischen und somatosensorischen System weiß man nur relativ wenig über den Einfluß der Umwelt auf die Entwicklung des olfaktorischen Systems. Doch ist bekannt, daß ein einseitiger Nasenverschluß bei neugeborenen Tieren dazu führt, daß das Größenwachstum des Bulbus olfactorius auf der verschlossenen Seite zurückbleibt. Dieser Effekt wird auf das Fehlen von Geruchsinformation, d.h. auf eine sensorische Deprivation zurückgeführt. Da das olfaktorische Epithel während der ersten Lebenswochen ebenfalls ein starkes Wachstum erfährt, stellt sich die Frage, inwieweit Umwelteinflüsse auch für seine Entwicklung von Bedeutung sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst das olfaktorische Epithel von je drei neugeborenen bzw. 30 Tage alten Kaninchen verglichen, um anschließend die Auswirkung experimenteller Eingriffe auf die Entwicklung des Epithels beurteilen zu können. Dazu wurden sowohl kaudale als auch rostrale Teile des olfaktorischen Epithels des Nasenseptums in Epon eingebettet und die davon gewonnenen Semidünnschnitte nach Richardson gefärbt, so daß beide Epithelseiten im selben Schnitt verglichen werden konnten. Von mindestens zwei Stellen pro Epithelseite wurden nun Zählungen der Sinneskolben, der Kerne von Rezeptor-, Stütz- und Basalzellen durchgeführt. Bei allen Schnitten der normalen Tiere ergab sich große zahlenmäßige Übereinstimmung zwischen rechter und linker Epithelseite. Außerdem konnte gezeigt werden, daß das erhebliche Dickenwachstum des olfaktorischen Epithels vom ersten bis zum 30. Lebenstag vor allem auf die Zunahme der olfaktorischen Rezeptorzellen zurückzuführen ist.

Bei sieben Tieren wurde eine der beiden äußeren Nasenöffnung am ersten Lebenstag verschlossen und am 30. Lebenstag die Epithelien beider Seiten verglichen. Neben Größenunterschieden der beiden Bulbi olfactorii ergaben sich quantitative Abweichungen des olfaktorischen Epithels der deprivierten Seite von dem der normalen Seite. Vor allem die neuralen Epithelkomponenten waren von der Deprivation betroffen: So war die Zahl der olfaktorischen Sinneskolben auf der verschlossenen Seite um durchschnittlich 25% und die der Rezeptorzellkerne um 11% niedriger als auf der be-

atmeten Seite. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung der Sinneskolben ergab jedoch keine Unterschiede in ihrer Feinstruktur. Neben dem olfaktorischen Epithel waren auch die lymphoretikulären Einlagerungen in der respiratorischen Schleimhaut der verschlossenen Nasenhöhle weit weniger ausgebildet als auf der normalen Seite, was auf eine Minderung von schädlichen Umwelteinflüssen auf der verschlossenen Seite hinweist.

Interessanterweise führte eine Wiedereröffnung des Nasenlochs am 5. oder 10. Lebenstag bei drei Tieren zu einer vollständigen Erholung des Epithelwachstums und sogar eine temporäre Wiederöffnung für 5 Tage oder nur für 24 Stunden bei fünf Tieren reichte aus, um die Entwicklung der verschlossenen Seite zu stimulieren. Diese Befunde bieten nun die Möglichkeit, die Bedeutung exogener Einflüsse - sowohl olfaktorischer als auch nicht sensorischer - auf die Regulation der postnatalen Entwicklung von olfaktorischen Rezeptorzellen gezielt zu untersuchen.

Summary

EFFECTS OF UNILATERAL NOSTRIL OCCLUSION ON THE DEVELOPMENT OF OLFACTORY EPITHELIUM IN RABBITS

Compared to studies on the visual, auditory, and somatosensory systems there has been relatively little investigation of the effects of sensory deprivation on the development of the olfactory system. However, neonatal closure of a nostril has been shown to retard the postnatal increase in the size of the corresponding olfactory bulb, an effect generally attributed to the lack of olfactory stimulation. Although the olfactory epithelium also undergoes marked postnatal development, it remains an open question to what extent environmental factors influence this.

In this study the olfactory epithelium from 3 newborn and 3 30-day-old rabbits was compared so as to provide a baseline for the assessment of deprivation effects. For this, caudal and rostral samples from the olfactory epithelium of the nasal septum were embedded in Epon, and semithin sections cut so as to allow, after using Richardson's stain, a comparison of left and right epithelium in the same section. The number of olfactory knobs and nuclei of receptor, supporting and basal cells was then calculated for at least two sites per epithelium. While extensive growth in the thickness of the epithelium resulting primarily from an increase in the number of receptor cells was observed, no significant difference in the cell counts from the left and right side of 30-day-old control animals was found.

To examine the effects of deprivation, a nostril was surgically closed in 7 animals at birth and on day 30 epithelium from the open and closed sides compared. Clear differences both in the size of olfactory bulbs and in epithelial cell counts were found. The number of knobs was reduced by an average of 25% and of receptor cell nuclei by 11% on the deprived side, although electron microscopic analysis failed to reveal any basic difference in the fine structure of olfactory knobs. In addition, the lymphatic tissue associated with the respiratory epithelium was clearly less developed on the closed side, presumably as a result of reduced exposure to noxious influences.

Interestingly reopening a nostril on day 5 or 10 ($n = 3$) resulted in normal epithelial growth, while a temporary reopening for 5 days or even as little as 24 hours ($n = 5$) was sufficient to stimulate development on the deprived side. These results should now provide a basis for investigating the role of exogenous influences, both olfactory and nonsensory, in the postnatal receptor cell development.

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.
Molekularbiologie der Zelle
VHC-Verlagsgesellschaft, Weinheim (1987)
- Allen, W.K., Akeson, R.
Identification of an olfactory receptor subclass: cellular and molecular analysis during development
Dev. Biol. 109: 393-401 (1985a)
- Allen, W.K., Akeson, R.
Identification of a cell surface glycoprotein family of olfactory receptor neurons with a monoclonal antibody
J. Neurosci. 5: 284-296 (1985b)
- Allison, A.C., Warwick, R.T.T.
Quantitative observations in the olfactory system of the rabbit
Brain 72: 186-197 (1949)
- Altner, H., Kohlberger, I.
The application of transmission electron microscopy on the study of the olfactory epithelium in vertebrates
In: Methods in Olfactory Research, ed. Moulton, D.G.
Academic Press, London-New York-San Francisco pp. 163-190 (1975)
- Andres, K.H.
Differenzierung und Regeneration von Sinneszellen in der Regio olfactoria
Naturwiss. 17: 500-501 (1965)
- Andres, K.H.
Der Feinbau der Regio olfactoria von Makrosmatikern
Z. Zellforsch. 69: 140-154 (1966)
- Andres, K.H.
Der olfaktorische Saum der Katze
Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 96: 250-274 (1969)
- Astic, L., Saucier, D., Holley, A.
Topographical relationships between olfactory receptor cells and glomerular foci in the rat olfactory bulb
Brain Res. 424: 144-152 (1987)
- Bean, J.N.
Modulation of agonistic behavior by the dual olfactory system in male mice
Physiol. Behav. 29: 433-437 (1982)
- Beard, M.D., Mackay-Sim, A.
Loss of sense of smell in adult, hypothyroid mice
Dev. Brain Res. 36: 181-189 (1987)
- Beauchamp, G.K., Martin, J.G., Wysocki, C.J., Wellington, J.L.
Chemoinvestigatory and sexual behavior of male guinea pigs following vomeronasal organ removal
Physiol. Behav. 29: 329-336 (1982)
- Benson, T.E., Ryugo, D.K., Hinds, J.W.
Effects of sensory deprivation on the developing mouse olfactory system: a light and electron microscopic, morphometric analysis,
J. Neurosci. 4: 638-653 (1984)

- Berger, B.
Dégénérence transsynaptique dans le bulbe olfactif du lapin après désafférentation périphérique. Observations ultrastructurale
Acta Neuropathol. (Berl.) 24: 128-152 (1973)
- Berger, H.
Experimentell-anatomische Studien über die durch den Mangel optischer Reize veranlassten Entwicklungshemmungen im Occipitallappen des Hundes und der Katze
Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten 33: 521-567 (1900)
- Blakemore, C., Cooper, G.F.
Development of the brain depends on the visual environment
Nature 228: 477-478 (1970)
- Bojsen-Møller, F.
Demonstration of terminalis, olfactory, trigeminal and perivascular nerves in the rat nasal septum
J. Comp. Neurol. 159: 245-256 (1975)
- Bouvet, J.F., Delaleu, J.C., Holley, A.
Olfactory receptor cell function is affected by trigeminal nerve activity
Neurosci. Lett. 77: 181-186 (1987)
- Breipohl, W., Mackay-Sim, A., Grandt, D., Rehn, B., Darrelmann, C.
Neurogenesis in the vertebrate main olfactory epithelium
In: *Ontogeny of Olfaction*, ed. Breipohl, W.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York pp. 21-35 (1986)
- Broadwell, D.R.
Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. I. An autoradiographic study of the efferent connections of the main and accessory olfactory bulbs
J. Comp. Neurol. 163: 329-346 (1975a)
- Broadwell, D.R.
Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. II. An autoradiographic and horseradish peroxidase study of the efferent connections of the anterior olfactory nucleus
J. Comp. Neurol. 164: 389-409 (1975b)
- Brunjes, P.C.
Unilateral odor deprivation: time course of changes in laminar volume
Brain Res. Bull. 14: 233-237 (1985)
- Brunjes, P.C.
Precocity and plasticity: Odor deprivation and brain development in the precocial mouse *Acomys cahirinus*
Neurosci. 24: 579-582 (1988)
- Brunjes, P.C., Borror, M.J.
Unilateral odor deprivation: differential effects due to time of treatment
Brain Res. Bull. 11: 501-503 (1983)
- Brunjes, P.C., Frazier, L.L.
Maturation and plasticity in the olfactory system of vertebrates
Brain Res. Rev. 11: 1-45 (1986)
- Brunjes, P.C., Smith-Crafts, L.K., McCarty, R.
Unilateral odor deprivation: effects on the development of olfactory bulb catecholamins and behavior
Dev. Brain Res. 22: 1-6 (1985)

- Cain, W.S., Murphy, C.L.
Interactions between chemoreceptive modalities of odour and irritation
Nature 284: 255-257 (1980)
- Castelluci, V.F.
The Cerebral Senses: Taste and Smell
In: *Principles of Neural Science*, ed., Kandel, E.R., Schwartz, J.H.
Elsevier, New York-Amsterdam-Oxford pp. 409-425 (1986)
- Chuah, M.I., Farbman, A.I.
Olfactory bulb increases marker protein in olfactory receptor cells
J. Neurosci. 3: 2197-2205 (1983)
- Clancy, N., Schoenfeld, A., Macrides
Topographic organization of peripheral input to the hamster main olfactory bulb
Chem. Senses 10: 399-400 (1985)
- Costanzo, R.M.
Comparison of neurogenesis and cell replacement in the hamster olfactory system with and without a target (olfactory bulb)
Brain Res. 307: 295-301 (1984)
- Costanzo, R.M.
Neural regeneration and functional reconnection following olfactory nerve transection in hamster
Brain Res. 361: 258-266 (1985)
- Costanzo, R.M., Graziadei, P.P.C.
A quantitative analysis of changes in the olfactory epithelium following bulbectomy in hamster
J. Comp. Neurol. 215: 370-381 (1983)
- Cushieri, A., Bannister, L.H.
The development of the olfactory mucosa in the mouse: light microscopy
J. Anat. 119: 277-286 (1975a)
- Cushieri, A., Bannister, L.H.
The development of the olfactory mucosa in the mouse: electron microscopy
J. Anat. 119: 471-498 (1975b)
- Distel, H., Hudson, R.
Nipple-search performance by rabbit pups: Changes with age and time of day
Anim. Behav. 32: 501-507 (1984)
- Doucette, J.R., Kiernan, J.A., Flumerfelt, B.A.
Two different patterns of retrograde degeneration in the olfactory epithelium following transection of primary olfactory axons
J. Anat. 136: 673-689 (1983)
- Døving, K.B., Pinching, A.J.
Selective degeneration of neurons in the olfactory bulb following prolonged odour exposure
Brain Res. 52: 115-129 (1973)
- Estes, R.D.
The role of the vomeronasal organ in mammalian reproduction
Mammalia 36: 315-341 (1972)
- Farbman, A.I.
Prenatal development of mammalian olfactory receptor cells
Chem. Senses 11(1): 3-18 (1986)
- Farbman, A.I., Ritz, S.M., Brunjes, P.
The effect of odor deprivation on olfactory epithelium in developing rats
Soc. Neurosci. Abstr. 10: 530 (1984)

- Farbman, A.I., Ritz, S.M., Brunjes, P.
The effect of odor deprivation on olfactory epithelium in developing rats
Chem. Sense 10: 404-405 (1985)
- Frühwald, V.
Die Folgen des einseitigen Nasenverschlusses auf die Riechschleimhaut und auf den Bulbus und Tractus olfactorius
Arch. Ohr. Nas. Kehlk. hk. 139: 153-173 (1935)
- Fujita, S.C., Mori, K., Imamura, K., Obata, K.
Subclasses of olfactory receptor cells and their segregated central projections demonstrated by a monoclonal antibody
Brain Res. 326: 192-196 (1985)
- Ganz, L., Hirsch, H.V.B., Tieman, S.B.
The nature of perceptual deficits in visually deprived cats
Brain Res. 44: 547-568 (1972)
- Giroud, A., Marinet, M., Deluchat, C.
Mécanisme de développement du bulbe olfactif
Arch. Anat. Histol. Embryol. (Strasb.) 48: 203-217 (1965)
- Graziadei, P.P.C.
The olfactory mucosa of vertebrates
In: *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. IV, ed. Beidler L.M.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg- New York pp 27-58 (1971)
- Graziadei, P.P.C.
The ultrastructure of vertebrate olfactory mucosa
In: *The Ultrastructure of Sensory Organs*, ed. Friedman I.
North Holland Publishing Company Amsterdam-London
pp 269-284 (1973a)
- Graziadei, P.P.C.
Cell dynamics in the olfactory mucosa
Tissue Cell 5: 113-131 (1973b)
- Graziadei, P.P.C.
Functional anatomy of the mammalian chemoreceptor system
In: *Chemical Signals in Vertebrates*, ed. Müller-Schwarze, D. and Mozell, M.M.,
Plenum Press, New York pp 435-454 (1977)
- Graziadei, P.P.C., Kaplan, M.S., Monti Graziadei, G.A., Bernstein, J.J.
Neurogenesis of sensory neurons in the primate olfactory system after section of the fila olfactoria
Brain Res. 186: 289-300 (1980)
- Graziadei, P.P.C., Levine, R.R., Monti Graziadei, G.A.
Regeneration of olfactory axons and synapse formation in the forebrain after bulbectomy in neonatal mouse
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 5230-5234 (1978)
- Graziadei, P.P.C., Levine, R.R., Monti Graziadei, G.A.
Plasticity of connections of the olfactory sensory neurons: Regeneration into the forebrain following bulbectomy in the neonatal mouse
Neurosci. 4: 712-727 (1979)
- Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A.
Continuous nerve cell renewal in the olfactory system
In: *Handbook of Sensory Physiology* Vol. IX, ed. Jacobson, M.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York pp 55-83 (1978a)

- Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A.
The olfactory system: A model for the study of neurogenesis and axon regeneration in mammals
In: Neuronal Plasticity, ed. Cotman, C.W.
Raven Press, New York pp 131-153 (1978b)
- Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A.
Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. I. Morphological aspects of differentiation and structural organization of the olfactory sensory neurons
J. Neurocytol. 8: 1-18 (1979)
- Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A.
Regeneration in the olfactory system of vertebrates
Am. J. Otolaryngol. 4: 228-233 (1983)
- Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A.
Neurogenesis and plasticity of the olfactory sensory neuron
Hope for a new Neurol. 457: 127-142 (1985)
- Graziadei, P.P.C., Samanen, D.W.
Ectopic glomerular structures in the olfactory bulb of neonatal and adult mice
Brain Res. 187: 476-472 (1980)
- Gudden, B.
Experimentaluntersuchungen über das peripherische und centrale Nervensystem
Arch. f. Psychiat. 2: 693-723 (1870)
- Guth, L.
History of C.N.S. regeneration research
Exp. Neurol. 48: 3-15 (1975)
- Hafner, A.
Elektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchung der neuralen Elemente der Riechschleimhaut des Hundes und lichtmikroskopische und immunhistochemische Charakterisierung spontaner Riechschleimhauttumoren bei Hund und Katze
Diss. med. vet. Ludwig Maximilians-Universität München (1987)
- Halpern, M.
The organization and function of the vomeronasal system
Ann. Rev. Neurosci. 10: 325-362 (1987)
- Harding, J.W., Getchell, T.V., Margolis, F.L.
Denervation of the primary olfactory pathway in mice. V. Long-term effect of intranasal ZnSO₄ irrigation on behavior, biochemistry and morphology
Brain Res. 140: 271-285 (1978)
- Harding, J.W., Graziadei, P.P.C., Monti Graziadei, G.A., Margolis, F.L.
Denervation in the primary olfactory pathway of mice. IV. Biochemical and morphological evidence for neuronal replacement following nerve transection
Brain Res. 132: 11-28 (1977)
- Harding, J.W., Wright, J.W.
Effects of intranasal irrigation with mitotic inhibitors on olfactory behavior and biochemistry in mice
Brain Res. 168: 31-41 (1979)
- Harvey, F.E., Cowley, J.J.
Effects of chemical environment on the developing olfactory bulbs of the mouse
Brain Res. Bull. 13: 541-547 (1984)

- Hempstead, J.L., Morgan, J.I.
Monoclonal antibodies to the rat olfactory sustentacular cell
Brain Res. 288: 289-295 (1983)
- Henkin, R.I.
The role of adrenal corticosteroids in sensory processes
In: Handbook of Physiology, Vol. VI. (ed) Blanschko, H., Smith, A.D., Seyers, G., Am.
Physiol. Soc., Washington DC pp 209-230 (1975)
- Hinds, J.W.
Early neuron differentiation in the mouse olfactory bulb I. Light microscopy
J. Comp. Neurol. 146: 233-252 (1972a)
- Hinds, J.W.
Early neuron differentiation in the mouse olfactory bulb II. Electron microscopy
J. Comp. Neurol. 146: 253-276 (1972b)
- Hinds, J.W., McNelly, N.A.
Aging in the rat olfactory system: correlation of changes in the olfactory epithelium
and olfactory bulb
J. Comp. Neurol. 203: 441-453 (1981)
- Hinds, J.W., Hinds, P.L., McNelly, N.A.
An autoradiographic study of the mouse olfactory epithelium: evidence for long lived
receptors
Anat. Rec. 210: 375-383 (1984)
- Huber, G.C., Guild, S.R.
Observations on the peripheral distribution of the nervus terminalis in mammalia
Anat. Rec. 7(8): 253-272 (1913)
- Hudson, R.
Das Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) als Verhaltensmodell zur Untersuchung
olfaktorischer Funktionen während der Ontogenese
Habilitationsschrift München (1988)
- Hudson, R., Distel, H.
Nipple location by newborn rabbits: Behavioural evidence for pheromonal guidance
Behaviour 81: 260-275 (1983)
- Hudson, R., Distel, H.
The potential of the newborn rabbit for behavioral teratological research
Neurobehav. Toxicol. Teratol. 8: 209-212 (1986a)
- Hudson, R., Distel, H.
Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on the vomeronasal organ
Physiol. Behav. 37: 123-128 (1986b)
- Hudson, R., Distel, H.
Functional regeneration of primary olfactory connections in newborn rabbits
Chem. Senses (1988) im Druck
- Immura, K., Mori, K., Fujita, S.C., Obata, K.
Immunochemical identification of subgroups of vomeronasal nerve fibers and their
segregated terminations in the accessory olfactory bulb
Brain Res. 328: 362-366 (1985)
- Jeanmonod, D., Rice, F.L., Van der Loos, H.
Mouse somatosensory cortex: Development of the alterations in the barrel field
which are caused by injury to the vibrissal follicles
Neurosci. Lett. 6: 151-156 (1977)
- Jorgensen, M.B., Buch, N.H.
Studies on the sense of taste and smell in diabetics
Acta Otolaryngol. (Stockh.) 53: 539-545 (1961)

- Jourdan, F.M.
Ultrastructure de l'épithélium olfactif du rat: polymorphisme des récepteurs
C. R. Acad. Sc. Paris, t. 280: 443-446 (1975)
- Kaba, H., Rosser, A. E., Keverne, E.B.
Hormonal enhancement of neurogenesis and its relationship to the duration of olfactory memory
Neurosci. 24,1: 93-98 (1988)
- Kallman, F.J., Schoenfeld, W.A., Barrara, S.E.
The genetic aspects of primary eunuchoidism
Am. J. Ment. Defic. 48: 203-236 (1944)
- Keverne, E.B.
Pheromonal influences on the endocrine regulation of reproduction
Trends Neurosci. 6: 381-384 (1983)
- Kolmer, W.
Das Geruchsorgan
In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. III/1 herausgg. von W.v. Möllendorf
Springer Verlag, Berlin S. 192-294 (1927)
- Laing, D.G., Panhuber, H.
Neural and behavioural changes in rats following continuous exposure to an odour
J. Comp. Physiol. 124: 259-265 (1978)
- Land, J.L.
Localized projection of olfactory nerves to rabbit olfactory bulb
Brain Res. 63: 153-166 (1973)
- Land, J.L., Shepherd, G.M.
Autoradiographic analysis of olfactory receptor projections in the rabbit
Brain Res. 70: 506-510 (1974)
- Larsell, O.
Studies on the nervus terminalis: Mammals
J. Comp. Neurol. 30: 3-68 (1918)
- Larsell, O.
The nervus terminalis
Ann. Otol. Rhinol. Lar. 59: 414-438 (1950)
- Lee, J.G., Ueno, K., Obata, E., Tanaka, K., Fukami, K. Ohyama, M.
Scanning electron microscopic study of olfactory epithelium in laryngectomized dogs
Chem. Senses 12(3): 510-511 (1987)
- Le Gros Clark, W.E.
Projection of the olfactory epithelium on to the olfactory bulb: a correction
Nature 165: 452-453 (1950)
- Le Gros Clark, W.E.
Projection of the olfactory epithelium on the olfactory bulb in the rabbit
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 14: 1-10 (1951)
- Le Gros Clark, W.E., Warwick, R.T.
The pattern of olfactory innervation
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 9: 101-111 (1946)
- Lehman, M.N., Winans, S.S.
Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior: Autoradiographic and behavioral analysis
Brain Res. 240: 27-41 (1982)

- Leon, M.
Plasticity of olfactory output circuits to early olfactory learning
Trends Neurosci. 10: 434-438 (1987)
- Locy, W.A.
On a newly recognized nerve connected with the fore-brain of
selachians
Anat. Anz. 26: 33-63 (1905)
- Lohman, A.H., Mentink, G.M.
The lateral olfactory tract, the anterior commissure and the cells of the olfactory
bulb
Brain Res. 12: 396-413 (1969)
- Lustig, A.
Die Degeneration des Epithels der Riechschleimhaut des Kaninchens nach
Zerstörung der Riechlappen desselben
Sitzungsb. d. k. Akad. d. W. math. naturw. Classe LXXXIX Bd. III Abth. (1884)
- Mackay-Sim, A., Bread, M.D.
Hypothyroidism disrupts neural development in the olfactory epithelium of adult
mice
Dev. Brain Res. 36: 190-198 (1987)
- Mackay-Sim, A., Patel, U.
Regional differences in cell density and cell genesis in the olfactory epithelium of
the salamander *Ambystomas tigrinum*
Exp. Brain Res. 57: 99-106 (1984)
- Macrides, F., Davis, B.J.
The olfactory bulb
In: *Chemical Neuroanatomy*, ed. Emson, P.C.
Raven Press, New York pp. 391-426 (1983)
- Margolis, F.L.
Olfactory marker protein: from PAGE band to cDNA clone
Trends in Neurosci. 8: 542-546 (1985)
- Marshall, J.R., Henkin, R.I.
Olfactory acuity, menstrual abnormalities and oocyte status
Ann. Intern. Med. 75: 207-211 (1971)
- Masera, Rudolfo, T.
Su l'esistenza di un particolare organo olfattivo nel setto nasale della cavia e di
altri roditori
Arch. Ital. Anat. Embryol. 48: 157-212 (1943)
- Matthews, M.R., Powell, T.P.S.
Some observations on transneuronal cell degeneration in the olfactory bulb of the
rabbit
J. Anat. 96: 89-102 (1962)
- Matulonis, D.H.
Ultrastructural study of mouse olfactory epithelium following destruction by
ZnSO₄ and its subsequent regeneration
Amer. J. Anat. 142: 67-90 (1975)
- Matulonis, D.H.
Effects of aging process on olfactory neuron plasticity
In: *Olfaction and Endocrine Regulation*, ed. Breipohl, W.
IRL-Press pp 299-308 (1981)

- McConnel, R.J., Menendez, C.E., Smith, F.R., Henkin, R.I., Rirlin, R.S.
Defects of taste and smell in patients with hypothyroidism
Am. J. Med. 59: 354-364 (1975)
- Meisami, E.
Effects of olfactory deprivation on postnatal growth of the rat olfactory bulb
utilizing a new method for production of neonatal unilateral anosmia
Brain Res. 107: 437-444 (1976)
- Meisami, E.
Influence of early anosmia on the developing olfactory bulb
Prog. Brain Res. 48: 211-229 (1978)
- Meisami, E., Louie, J., Hudson, R., Distel, H.
Marked postnatal increase in the total number of olfactory neurons and surface area
of the mucosa in the rabbit
9th Int. Symp. Olfact. Taste (1986)
- Meisami, E., Noushinfar, E.
Early olfactory deprivation and the mitral cells of the olfactory bulb: a golgi study
Int. J. Devl. Neurosci. 4(5): 431-444 (1986)
- Meisami, E., Mousavi, R.
Lasting effects of early olfactory deprivation on the growth, DNA, RNA, and protein
content, and Na-K-ATPase and AChE activity of the rat olfactory bulb
Dev. Brain Res. 2: 217-229 (1982)
- Meisami, E., Safari, L.
A quantitative study of the effects of early unilateral olfactory deprivation on the
number and distribution of mitral and tufted cells and of glomeruli in the rat
olfactory bulb
Brain Res. 221: 81-107 (1981)
- Metcalfe, J.F.
The olfactory epithelium: A model system for the study of neuronal differentiation
and development in adult mammals
Ph.D. Thesis, Florida State University, Tallahassee, Florida (1974)
- Miragall, F., Breipohl, W., Naguro, T., Voss-Wermbter, G.
Freeze-fracture study of the plasma membranes of the septal olfactory organ of
Masera
J. Neurocytol. 13: 111-125 (1984)
- Mogensen, C., Tos, M.
Experimental surgery on the nose
Acta Otolaryngol. 86: 289-297 (1978)
- Mollicone, R., Trojan, J., Oriol, R.
Appearance of H and B antigens in primary sensory cells of the rat olfactory
apparatus and the inner ear
Dev. Brain Res. 17: 275-279 (1985)
- Monti Graziadei, G.A., Graziadei, P.P.C.
Neurogenesis and neuron regeneration in the olfactory system of mammals. II.
Degeneration and reconstitution of the olfactory sensory neurons after axotomy
J. Neurocytol. 8: 197-213 (1979)
- Moran, D.T., Rowley, J.C., Jafek, B.W.
Electron microscopy of human olfactory epithelium reveals a new cell type: The
microvillar cell
Brain Res. 253: 39-46 (1982a)

- Moran, D.T. , Rowley, J.C., Jafek, B.W., Lovell, M.A.
The fine structure of the olfactory mucosa in man
J. Neurocytol. 11: 721-746 (1982b)
- Mori, K., Fujita, S.C., Imamura, K., Obata, K.
Immunohistochemical study of subclasses of olfactory nerve fibers and their projections to the olfactory bulb in the rabbit
J. Comp. Neurol. 242: 214-229 (1985)
- Mori, K., Imamura, K., Fujita, S.C., Obata, K.
Projections of two subclasses of vomeronasal nerve fibers to the accessory olfactory bulb in the rabbit
Neurosci. 20: 259-278 (1987)
- Moulton, D.G.
Pigment and the olfactory mechanism
Nature 29: 1312-1313 (1962)
- Moulton, D.G.
The olfactory pigment
In: *Handbook of sensory physiology* Vol. IV, ed. Beidler L.M.
Springer Verlag, New York, pp. 59-71 (1971)
- Moulton, D.G.
Spatial patterning of response to odors in the peripheral olfactory system
Physiol. Rev. 56: 578-593 (1976)
- Moulton, D.G., Beidler, L.M.
Structure and function in the peripheral olfactory system
Physiol. Rev. 47(1): 1-52 (1967)
- Moulton, D.G., Çelebi, G., Fink, R.P.
Olfaction in mammals-two aspects: proliferation of cells in the olfactory epithelium and sensitivity to odors
In: *Taste and Smell in Vertebrates*, ed. Wolstenholme, G.E.W., Knight, J.
Churchill, London pp 227-250 (1970)
- Muller, J.F., Marc, R.E.
Three distinct morphological classes of receptors in fish olfactory organs
J. Comp. Neurol. 222: 482-495 (1984)
- Mulvaney, B.D., Heist, H.E.
Mapping of rabbit olfactory receptor cells
J. Anat. 107: 19-30 (1970)
- Mulvaney, B.D., Heist, H.E.
Centriole migration during regeneration and normal development of olfactory epithelium
J. Ultrastruct. Res. 35: 274- 218 (1971a)
- Mulvaney, B.D., Heist, H.E.
Regeneration of rabbit olfactory epithelium
Am. J. Anat. 131: 241-252 (1971b)
- Nagahara, Y.
Experimentelle Studien über die histologischen Veränderungen des Geruchsorgans nach der Olfactoriusdurchschneidung. Beiträge zur Kenntnis des feineren Baus des Geruchsorgans
Jap. J. Med. Sci V, Pathol. 5: 165-199 (1940)
- Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E.
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. IV
Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen
Parey Verlag, Berlin-Hamburg (1975)

- Okano, M.
Fine structure of canine olfactory hairlets
Arch. Histol. Jap. 26: 169-185 (1965)
- Panhuber, H.
The effect of long duration postnatal odour exposure on the development of the rat olfactory bulb
In: Ontogeny of Olfaction, ed. Breipohl, W.
Springer Verlag, Berlin pp 127-142 (1986)
- Panhuber, H., Mackay-Sim, A., Laing, D.G.
Prolonged odor exposure causes severe cell shrinkage in the adult rat olfactory bulb
Dev. Brain Res. 31: 307-311 (1987)
- Pedersen, P.E., Jastreboff, P.J., Steward, W.B., Shepherd, G.M.
Mapping of an olfactory receptor population that projects to a specific region in the rat olfactory bulb
J. Comp. Neurol. 250: 93-108 (1986)
- Pinching, A.J. and Døving, K.B.
Selective degeneration in the rat olfactory bulb following exposure to different odours
Brain Res. 82: 195-204 (1974)
- Pinching, A.J., Powell, T.P.S.
Ultrastructural features of transneuronal cell degeneration in the olfactory system
J. Cell Sci. 8:253-287 (1971)
- Powell, T.P.S.
Transneuronal cell degeneration in the olfactory bulb shown by the Golgi method
Nature 215: 425-426 (1967)
- Raisman, G.
An experimental study of the projection of the amygdala to the accessory olfactory bulb and its relationship to the concept of a dual olfactory system
Exp. Brain Res. 14: 395-408 (1972)
- Reaser, D.S.
Spatially selective alteration of the mitral cell layer: a critical review of the literature
Chem. Senses. 12 (2): 365-379 (1987)
- Rehn, B., Breipohl, W., Schmidt, C., Schmidt, U., Effenberger, F.
Chemical blockade of olfactory perception by N-methyl-formimino-methylester in albino mice II. Light microscopical investigations
Chem. Senses. 6: 317-328 (1981)
- Reinken, U., Schmidt, U.
Dependence of single unit activity in the olfactory bulb on early odor experience in the laboratory mouse
Naturwiss. 74: 555-556 (1987)
- Richardson, K.C., Jarett, L., Finke, H.
Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy
Stain Technol. 35: 313-323 (1960)
- Samanen, D.W., Forbes, W.B.
Replication and differentiation of olfactory receptor neurons following axotomy in the adult hamster: A morphometric analysis of postnatal neurogenesis
J. Comp. Neurol. 225: 201-211 (1984)
- Saucier, D., Astic, L.
Analysis of topographical organization of olfactory epithelium projections in the rat
Brain Res. Bull. 16: 455-462

- Scalia, F., Winans, S.S.
The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals
J. Comp. Neurol. 161: 31-56 (1975)
- Schultz, E.W.
Regeneration of olfactory cells
Proc. Soc. Exp. Biol. 46: 41-43 (1941)
- Schultz, E.W.
Repair of olfactory mucosa
Amer. J. Path. 37: 1-19 (1960)
- Schwanzel-Fukuda, M., Silverman, A. J.
The nervus terminalis of the guinea pig: A new luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neuronal system
J. Comp. Neurol. 191: 213-225 (1980)
- Schwob, J.E., Gottlieb, D.I.
The primary olfactory projection has two chemically distinct zones
J. Neurosci. 6(11): 3393-3404 (1986)
- Seifert, K.
Die Ultrastruktur des Riechepithels beim Makrosomatiker
In: Normale und Pathologische Anatomie
G. Thieme Verlag, Stuttgart, Heft 21: 1-99 (1970)
- Sharp, F.R., Kauer, J.S., Sheperd, G.M.
Local sites of activity-related glucose metabolism in rat olfactory bulb during olfactory stimulation
Brain Res. 98: 596-600 (1975)
- Shepherd, G.M.
Welcome whiff of biochemistry
Nature 316: 214-215 (1985)
- Sherman, S.M., Spear, P.D.
Organization of visual pathways in normal and visually deprived cats
Physiol. Rev. 62(2): 738-844 (1982)
- Sherman, S.M., Stone, J.
Physiological normality of the retina in visually deprived cats
Brain Res. 60: 224-230 (1973)
- Silver, W.L., Maruniak, J.A.
Trigeminal chemoreception in the nasal and oral cavities
Chem. Senses 6(4): 295-305 (1981)
- Simmons, P.A., Getchell, T.V.
Neurogenesis in olfactory epithelium: Loss and recovery of transepithelial voltage transients following olfactory nerve section
J. Neurophysiol. 45: 516-528 (1981a)
- Simmons, P.A., Getchell, T.V.
Physiological activity of newly differentiated olfactory receptor neurons correlated with morphological recovery from olfactory nerve section in the salamander
J. Neurophysiol. 45: 529-549 (1981b)
- Skeen, L.C., Due, B.R., Douglas, F.E.
Effects of early anosmia on two classes of granule cells in developing mouse olfactory bulbs
Neurosci Lett. 54: 301-306 (1985)

- Skeen, L.C., Due, B.R., Douglas, F.E.
Neonatal sensory deprivation reduces tufted cell number in mouse olfactory bulbs
Neurosci. Lett. 63: 5-10 (1986)
- Smart, I.H.M.
Location and orientation of mitotic figures in the developing mouse olfactory epithelium
J. Anat. 109 (2): 243-251 (1971)
- Smith, C.G.
The change in volume of the olfactory and accessory olfactory bulbs of the albino rat during postnatal life
J. Comp. Neurol. 61: 477-508 (1935)
- Smith, C.G.
Pathologic changes in olfactory nasal mucosa of albino rats with "stunted" olfactory bulbs
Arch. Otolaryngol. 25: 131-143 (1937)
- Stewart, W.B., Pedersen, P.E.
The spatial organization of olfactory nerve projections
Brain Res. 411: 248-258 (1987)
- Stone, H., Carregal, E.J., Williams, B.
The olfactory-trigeminal response to odorants
Life Sci. 5: 2195-2201 (1966)
- Stone, H., Rebert, C.S.
Observations on trigeminal olfactory interactions
Brain Res. 21: 138-142 (1970)
- Stone, H., Williams, B., Carregal, E.J.
The role of trigeminal nerve in olfaction
Exp. Neurol. 21: 11-19 (1968)
- Takagi, S.F.
Degeneration and regeneration of the olfactory epithelium
In: *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. IV (ed) Beidler, L.M.
Springer Verlag, New York pp 75-94 (1971)
- Tos, M., Mogensen, C.
Experimental surgery on the nose
Acta otolaryngol. 87: 317-323 (1979)
- Van der Loos, H., Woolsey, T.A.
Somatosensory cortex: Structural alterations following early injury to sense organs
Science 179: 395-398 (1973)
- Wiesel, T.N.
Postnatal development of the visual cortex and the influence of environment
Nature 299: 583-591 (1982)
- Wiesel, T.N., Hubel, D.H.
Effects of visual deprivation on morphology and physiology of cells in the cat's lateral geniculate body
J. Neurophysiol. 26: 978-993 (1963)
- Winans, S.S., Powers, J.B.
Olfactory and vomeronasal deafferentation of male hamsters: Histological and behavioral analysis
Brain Res. 126: 325-344 (1977)

Winans, S.S., Scalia, F.

Amygdaloid nucleus: new afferent input from the vomeronasal organ

Science 170: 330-332 (1970)

Witkin, J.W., Silverman, A.J.

Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in rat olfactory systems

J. Comp. Neurol. 218: 426-432 (1983)

Wright, J.W., Harding, J.W.

Recovery of function after bilateral bulbectomy

Science 216: 322-323 (1982)

Wysocki, C.J., Nyby, J., Whitney, G., Beauchamps, G.K., Katz, Y.

The vomeronasal organ: Primary role in mouse chemosensory gender recognition

Physiol. Behav. 29: 315-327 (1982)

Lebenslauf: Bernhard Ulrich STAHL

26. Sept. 59: Geboren in Öhringen als Sohn des Landwirts Rudolf STAHL und seiner Frau Rosemarie STAHL, geborene FRANK als drittes von sechs Kindern.
- 1966-1970: Besuch der Grundschule in Westernbach
- 1970-1979: Besuch des Hohenlohe-Gymnasiums in Öhringen
- 1979-1980: Ableistung des Grundwehrdienstes in Bad Mergentheim
- 1981-1986: Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
- Nov. 1986: III. Teil Staatsexamen (Studiumabschluß)
- März 1987: Approbation als Tierarzt
- seit
- Jan. 1987: Vorbereitung auf die Promotion am Institut für Medizinische Psychologie in München

Danksagung:

Allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, danke ich herzlich. Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozenten Dr. Hansjürgen Distel für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie für die jederzeit gewährte Hilfe bei der Durchführung der Arbeit. Frau Dr. Robyn Hudson möchte ich für die zahlreichen, anregenden Diskussionen und die Unterstützung bei der Durchführung der Verhaltenstests danken. Frau Dr. Monika Donicht danke ich für die aufmerksame Durchsicht dieser Arbeit. Insbesondere danke ich auch Herrn Prof. Dr. Erwin Dahme für die großzügig gewährte Unterstützung vor allem bei der Benutzung der elektronenmikroskopischen Einrichtungen seines Instituts. Herrn Prof. Breipohl (Brisbane) möchte ich für sachkundige Diskussionen und den Austausch von EM-Material danken. Herrn Prof. Dr. H. Holländer und Frau Schwarz vom MPI für Psychiatrie danke ich für die Einweisung in die Ultradünnschnittechnik. Frau Haide Ansari (Inst. Med. Psychol.) möchte ich für die Hilfe bei der Anfertigung von Abbildungen danken, Frau Claudia Hoffmann und Herrn Walter Tauscher (Inst. Tierpath.) für die Hilfe bei der Anfertigung von Semidünnschnitten und von EM-Aufnahmen. Nicht zuletzt danke ich Herrn Alfred Halser für die Pflege und Versorgung meiner Versuchstiere.

